

Ережепов Д.А.¹, Манарбек Л.², Акильжанова А.Р.³

¹PhD, научный сотрудник лаборатории геномной и персонализированной медицины, Центр наук о жизни, Частное учреждение «National Laboratory Astana», e-mail: dauren.yerezhpov@nu.edu.kz

²студент магистратуры, Школа наук и технологий, e-mail: lmanarbek@nu.edu.kz

³доктор медицинских наук, PhD, ассоциированный профессор, руководитель лаборатории геномной и персонализированной медицины, Центр наук о жизни, Частное учреждение «National Laboratory Astana», e-mail: akilzhanova@nu.edu.kz
Назарбаев Университет, Казахстан, г. Астана

**ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ, МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ СИНДРОМ
И РИСК РАЗВИТИЯ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
СРЕДИ ЖЕНЩИН КАЗАХСТАНА**

Работа посвящена исследованию связи рака молочной железы с метаболическим синдромом и генами, участвующими в метаболизме липидов. В рамках данного исследования нами были рекрутированы 136 участников с диагнозом РМЖ и 83 условно здоровых участников контрольной группы. Среди заболеваний, сопутствующих раку молочной железы, преобладают артериальная гипертензия, хронический бронхит, ишемическая болезнь сердца, миома матки, холецистит, варикозное расширение вен нижних конечностей, панкреатит. Встречаемость сахарного диабета 2-го типа составила 13,2%. Биохимический анализ на 18 метаболических показателей выявил, что в группе больных по сравнению с контрольной группой уровень гомоцистеина и витамина B₁₂ значительно превышает нормы. Анализ данных показал высокую корреляцию уровня гомоцистеина с риском развития рака молочной железы (ОШ = 15,29; ДИ = 5,67-41,28; p < 0,001) в исследуемой группе. При исследовании ассоциации полиморфизмов исследуемых генов с риском развития РМЖ среди женщин Казахстана выявлено протективное воздействие в генах FTO, PRKAA2 и STK11. В случае гена CRT2 в сверхдоминантной модели выявлена ассоциация с риском развития РМЖ (ОШ=1,95; ДИ = 1,1-3,46; p=0,021). При исследовании связи между генетическим профилем и метаболическими показателями было выявлено, что генотип C/C (дикий) гена PRKAA2 может влиять на увеличение уровня холестерина при нормальных показателях витамина B₁₂ (ОШ=3,43; ДИ = 1,25-9,39; p < 0.015) и генотип T/C влияет на увеличение холестерина при повышенных показателях витамина B₁₂ (ОШ=3,23; ДИ = 1,1-9,52; p < 0.035). Из данных анализа следует, что уровень гомоцистеина может быть использован как биомаркер, входящий в состав комплекса диагностических мер при раке молочной железы. К тому же, генотипы C/C и T/C гена PRKAA2 могут быть использованы как маркеры уровней холестерина и витамина B₁₂ в организме. Для исследования ассоциации других генов с биохимическими показателями и риском развития РМЖ необходимо увеличение выборки.

Ключевые слова: рак молочной железы, метаболический синдром, генетический профиль.

Yerezhpov D.¹, Manarbek L.², Akilzhanova A.³

¹PhD, Researcher, Laboratory of genomic and personalized medicine, Center for Life Sciences, Private Institution «National Laboratory Astana», e-mail: dauren.yerezhpov@nu.edu.kz

²Master, School of Science and Technology, e-mail: lmanarbek@nu.edu.kz

³D.M.Sci, PhD, associate professor, Head of the Laboratory of genomic and personalized medicine, Center for Life Sciences, Private Institution «National Laboratory Astana», e-mail: akilzhanova@nu.edu.kz
Nazarbayev University, Kazakhstan, Astana

Genetic profile, metabolic syndrome and breast cancer risk in Kazakhstani women

The work is devoted to the study of the relationship of breast cancer with the metabolic syndrome and genes involved in the metabolism of lipids. In the framework of this study, we recruited 136 participants diagnosed with breast cancer and 83 conditionally healthy participants in the control group.

Among the diseases associated with breast cancer, hypertension, chronic bronchitis, ischemic heart disease, uterine myoma, cholecystitis, varicose veins of the lower extremities, pancreatitis are prevalent. The incidence of type 2 diabetes was 13.2%. Biochemical analysis on 18 metabolic parameters showed that in the group of patients compared with the control group, the level of homocysteine and vitamin B₁₂ is much higher than normal. Data analysis showed a high correlation between homocysteine levels and the risk of developing breast cancer (OR = 15.29, CI = 5.67-41.28, p < 0.001) in the study group. In the study of the association of polymorphisms of the investigated genes with the risk of developing breast cancer among women in Kazakhstan, the contribution of the association of polymorphisms of the studied genes with the risk of developing breast cancer among women in Kazakhstan revealed a protective effect in the genes FTO, PRKAA2 and STK11. In the case of the CRT2 gene, an association with the risk of developing breast cancer was identified in an over-dominant model (OR = 1.95, CI = 1.1-3.46, p = 0.021). When studying the relationship between the genetic profile and metabolic parameters, it was found that the genotype of the C/C (wild) gene PRKAA2 can affect the increase in cholesterol at normal vitamin B12 values (OR = 3.43, CI = 1.25-9.39; p < 0.015) and the T / C genotype affect the increase in cholesterol at elevated vitamin B₁₂ values (OR = 3.23, CI = 1.1-9.52; p < 0.035). From the analysis it follows that the level of homocysteine can be used as a biomarker, which is part of the complex of diagnostic measures for breast cancer. In addition, the genotypes of the C / C and T / C of the PRKAA2 gene can be used as markers of cholesterol and vitamin B₁₂ levels in the body. To study the association of other genes with biochemical indicators and the risk of developing breast cancer, an increase in the sample is necessary.

Key words: breast cancer, metabolic syndrome, genetic profile.

Ережепов Д.Ә.¹, Манарбек Л.², Акылжанова А.Р.³

¹PhD, Геномдық және дербес медицина зертханасының ғылыми қызметкері, Өмір туралы ғылымдар орталығы, «National Laboratory Astana» жеке мекемесі, e-mail: dauren.yerezhpev@nu.edu.kz

²Ғылым мен технология мектебінің магистратура студенті, e-mail: lmanarbek@nu.edu.kz

³Медицина ғылымдарының докторы, PhD, қауымдастырылған профессор,

Геномдық және дербес медицина зертханасының меңгерушісі, Өмір туралы ғылымдар орталығы, «National Laboratory Astana» жеке мекемесі, e-mail: akilzhanova@nu.edu.kz

Назарбаев Университеті, Қазақстан, Астана қ.

Генетикалық профиль, метаболиттік синдром және Қазақстан әйелдері арасындағы сүт безі ісігінің даму қаупі

Жұмыс сүт безі ісігінің метаболиттік синдром мен липидтер метаболизміне қатысты гендер арасындағы байланыстың зерттелуіне бағытталған. Осы зерттеу жұмысының барысында біз сүт безі ісігіне шалдыққан 136 қатысушы мен бақылау тобының шартты түрде сау 83 қатысушының рекрутингін іске асырдық. Зерттелген топтарында сүт безі ісігінің ілеспе ауруларының арасында артериялық гипертензия, созылмалы бронхит, жүректің ишемиялық ауруы, жатын миомасы, холецистит, қан тамырларының варикоздық кеңеюі, панкреатит басым келеді. 2-типті қант диабетінің кездесу үлесі 13,2%. 18 метаболиттік көрсеткіштен тұратын биохимиялық талдау ауруға шалдыққандар тобында бақылау тобына қарағанда гомоцистеин мен B₁₂ дәрумені деңгейлерінің қалыпты көрсеткіштен артық екенін көрсетті. Мәліметтердің талдануы гомоцистеин деңгейі мен сүт безі ісігінің пайда болу қаупімен жоғары корреляцияны көрсетті (ШҚ = 15,29; СИ = 5,67-41,28; p < 0,001). Зерттелген гендер полиморфизмдерінің сүт безі ісігінің даму қаупімен ассоциациясын зерттеген кезде FTO, PRKAA2 және STK11 гендерінің қорғаныш әсері анықталды. CRT2 генінің жоғары доминантты моделінде сүт безі ісігінің даму қаупімен тікелей ассоциациясы анықталды (ШҚ = 1,95; СИ = 1,1-3,46; p < 0,001). Генетикалық профиль мен метаболиттік көрсеткіштер арасындағы байланысты зерттеген кезде, PRKAA2 генінің C/C генотипі B₁₂ дәруменінің қалыпты деңгейі кезінде ағзадағы холестериннің жоғары деңгейіне әкеле алады (ШҚ = 3,43; СИ = 1,25-9,39; p < 0.015). Ал осы геннің T/C генотипі B₁₂ дәруменінің жоғары деңгейі кезінде ағзадағы холестериннің жоғары деңгейіне әкеле алады (ШҚ = 3,23; СИ = 1,1-9,52; p < 0.035). Талдау нәтижелері бойынша ағзадағы гомоцистеиннің деңгейін сүт безі ісігі кезінде қолданылатын диагностикалық шаралар кешеніне кіретін биомаркер ретінде қолдануға болады. Сонымен қатар, PRKAA2 генінің C/C және T/C генотиптерін ағзадағы холестерин мен B₁₂ дәруменінің деңгейлерін анықтау кезінде қолдануға болады. Басқа гендердің әсерін және олардың биохимиялық көрсеткіштер мен байланысын зерттеу үшін зерттеу тобын ұлғайту қажет.

Түйін сөздер: сүт безі ісігі, метаболиттік синдром, генетикалық профиль.

Введение

Рак молочной железы (РМЖ) является наиболее распространенной формой рака у женщин во всем мире и в Казахстане. В 2012 году порядка четверти всех новых случаев рака, а это в среднем 1,7 миллиона, приходилось на рак молочной железы в мире. РМЖ, как множество других заболеваний, является мультифакториальным и может развиваться вследствие эффекта таких факторов, как внешняя среда, фенотипические и генетические особенности организма, питание и образ жизни, наследственность и др (Ferlay J, 2015: e359-86). **Традиционными факторами** риска для РМЖ являются возраст, семейный анамнез рака, репродуктивная и менструальная истории. Но, Национальный институт рака также признает ожирение, отсутствие физической активности и потребление алкоголя как факторы риска (Howlader N, 2012). Некоторые из этих факторов риска, связаны с метаболическим синдромом (Grundy SM, 2004: 433-438).

Метаболический синдром (МС) является кластером патофизиологических расстройств, включающих ожирение, инсулин-резистентность, повышенное артериальное давление и дислипидемию. Определение МС по Ривену в 1988 году было дополнено последующими определениями Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), Национальной образовательной программы США по холестерину (NCEP ATP III), Американской кардиологической ассоциации / Национального института сердца, легких и крови и Международной федерации диабета (Reaven GM, 1988: 1595-1607; World Health Organization, 1999; Third Report NCEP, 2002: 3143-3421). Для диагноза МС необходимы определенные критерии. Эти критерии включают в себя наличие трех или более из следующих: абдоминальное ожирение (окружность талии ≥ 88 сантиметров у женщин), триглицериды ≥ 150 мг/дл, липопротеины высокой плотности (ЛПВП) < 50 мг/дл, артериальное давление (АД) $\geq 130/85$ мм рт. ст., и уровень глюкозы натощак ≥ 110 мг/дл. По оценке, МС распространен по крайней мере у четверти взрослого населения Америки, Европы, и Индии (Grundy SM, 2008: 629-636).

МС был определен как фактор риска для нескольких видов рака, в частности, рака молочной железы (Esposito K., 2013: 1301-1309; Osaki Y., 2012: 141-147; Rosato V., 2011: 2687-2692). Отдельные компоненты МС, например, абдоминальное ожирение, высокий уровень глюкозы в крови, высокое АД, высокий уровень тригли-

церидов, низкий уровень ЛПВП, положительно связаны с развитием некоторых видов рака, особенно рака молочной железы. В то время как исследования показывают положительную связь рака молочной железы с диабетом (Michels K.B., 2003: 1752-1758) и ожирением (Harvie M., 2003: 157-173), другие показывают отрицательную связь с ожирением у женщин в пременопаузе (Ursin G., 1995: 137-141). **Смешанные результаты** характеризуют гипертензию (Tornberg S.A., 1988: 31-37; Soler M., 1999: 320-325) и дислипидемию (Mink P. J., 2002: 349-352) как **риск развития** рака молочной железы. Кроме того, если отдельные компоненты МС могут быть не сильно связаны с развитием рака молочной железы, их комбинация может повысить риск (Largent J.A., 2006: 727-732). Например, МС может активировать различные молекулярные пути через эндокринные, метаболические и иммунные изменения в клетках, которые в свою очередь влияют на онкогенез (de Waard F., 1974: 153-160). Такие пути, которые повышают пролиферацию раковых клеток молочной железы и ингибировать апоптоз, включают (1) повышенный уровень циркулирующего эстрогена, например эстрадиола (Rose D. P., 2007: 763-777), (2) более высокий уровень инсулина (Liao S., 2011: 1061-1065), (3) сниженный уровень циркулирующего адипонектина, (4) повышенная концентрация лептина в плазме (Jarde T., 2011: 33-43), и (5) **повышенная** выработка провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин-6 и фактора некроза опухоли альфа (Goldberg J. E., 2010: 1133-1146).

Предыдущие эпидемиологические исследования по МС и риском рака молочной железы показывают противоречащие результаты. Например, только четыре из восьми исследований (Harvie M., 2003: 157-173; Ursin G., 1995: 137-141; Jarde T., 2011: 33-43) **показали статистически значимую связь** между МС и риском развития рака молочной железы. Это может привести к выводу, что связь между МС и риском развития рака молочной железы неизвестна. Тем не менее, такой вывод будет основываться на подходе подсчета голосов, подход, который игнорирует величину ассоциации.

Сахарный диабет 2 типа (СД2т) характеризуется гипергликемией, гиперинсулинемией и инсулинорезистентностью. Состояния организма при МС часто сопровождается ожирением, и это состояние организма связано как с атеросклеротическим заболеванием сердечно-сосудистой системы, так и с СД2т. СД, метаболический синдром и рак молочной железы более распростра-

нены в развитых, чем в развивающихся странах, где сидячий образ жизни и высокое потребление рафинированных углеводов и насыщенных жиров являются более распространенными. Диабетическое состояние вызывает изменения в нескольких гормональных системах, в том числе инсулин, факторы роста, эстрогена и других цитокинов, факторов роста, которые могут повлиять на риск развития рака молочной железы. Взаимодействие этих факторов в гормональном диабетическом состоянии является сложным и, скорее всего, участвует в развитии рака, потому что большинство из этих гормональных факторов, как известно, играют важную роль в канцерогенезе (Fei Xue, 2007: 823-835).

Учитывая то, что формирование МС характеризуется биохимическими особенностями/ нарушениями обмена глюкозы, липидов и отчасти белков, в том числе и гормонов, сложная связь биохимических путей формирует каскад или «паутину» взаимосвязанных реакций. Ключевым ферментом данной «паутины» является АМФ-активируемая протеинкиназа (АМФК), которая является основным регулятором энергии гомеостаза, стимулирующая пути образования энергии и ингибируя пути потребления (Goldberg J. E., 2010: 1133-1146). АМФК, индуцируемая АМФ, ингибирует ацетил-СоА-карбоксилазы (АКК) и 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА-редуктазы (ГМГ-КоА-редуктаза, HMGCR). Более поздние данные показали, что активность АМФК также может регулироваться физиологическими факторами, независимо от энергетического заряда клетки, в том числе гормоны и питательные вещества (Fei Xue, 2007: 823-835).

По материалам некоторых исследований АМФК ингибирует пролиферацию злокачественных и доброкачественных клеток. Одним из путей достижения данного механизма является ингибирование синтеза липидов, описанное ранее, поскольку делящиеся клетки нуждаются в высоком уровне *de novo* липогенеза, необходимого для быстрого синтеза мембраны. АМФК ингибирует синтез белков путем ингибирования белка-мишени рапамицинового комплекса (mTOR), и, следственно, рост и пролиферацию клеток (Motoshima H, 2006: 63-71).

Исследования показали, что в присутствии АМФ активность АМФК возрастает в пять раз путем конформационных изменениях в γ -субъединице. Однако активация самой АМФК нуждается в фосфорилировании, что повышает его активность в 100 раз. Такой прирост активности достигается фосфорилированием

α -субъединицы фермента на позиции треонина 172 (Тре172), кодируемой геном PRKAA2. Мутации на данной точке в аминокислотной цепи фермента приводят к снижению его фосфорилируемости и активности, соответственно (Horikoshi M., 2006: 919-923).

В стрессовых ситуациях АМФК фосфорилируется специфической серин-треониновой киназой LKB1 (печеночная киназа B1 – liver kinase B1), кодируемой геном *STK11*. Киназа LKB1 считается супрессором опухоли при синдроме Пейтса-Егерса (Peutz-Jeghers syndrome – PJS). Потеря активности LKB1 в печени взрослой мыши приводит к почти полной потере активности АМФК и гипергликемие (Motoshima H, 2006: 63-71).

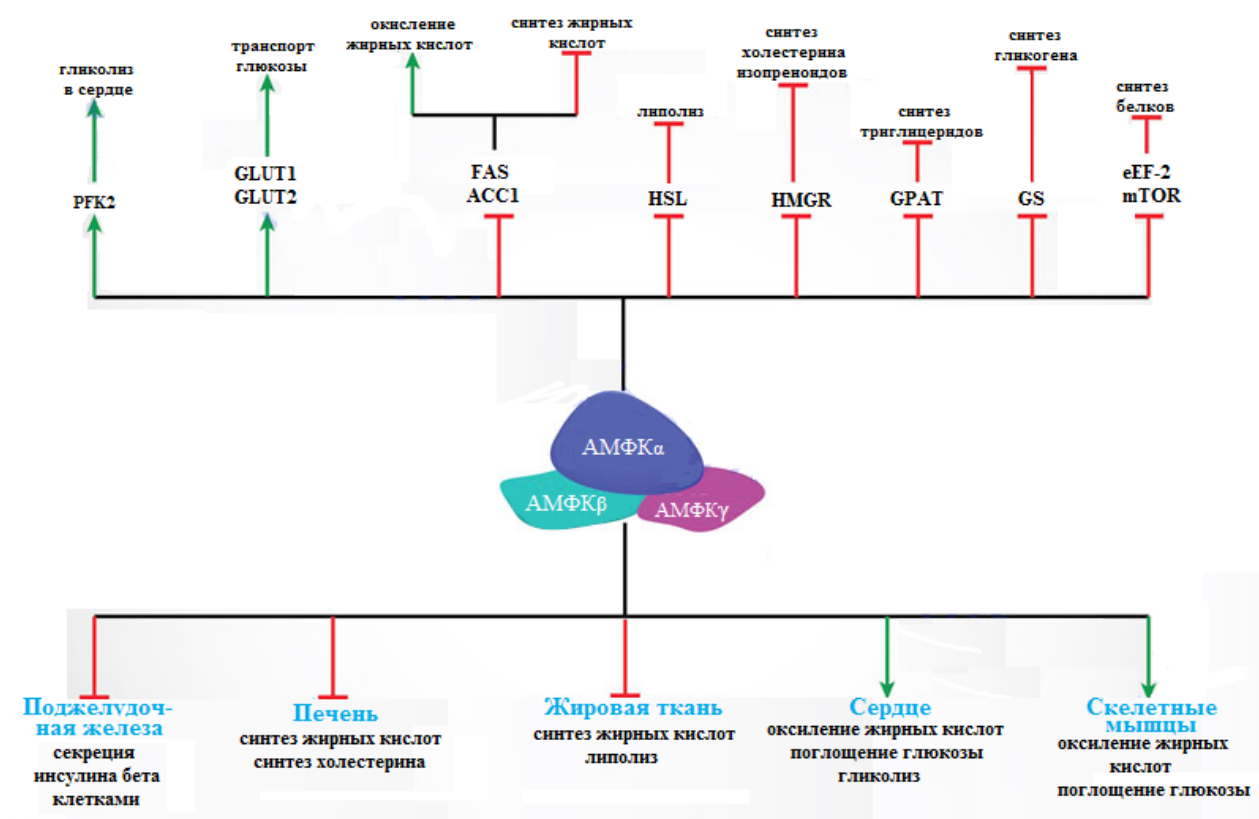
Сигнальные каскады, инициируемые активацией АМФК, оказывают воздействие на метаболизм глюкозы и липидов, экспрессию генов и синтез белка. Эти эффекты являются наиболее важными для регулирования метаболических реакций в печени, мышцах, сердце, жировой ткани и поджелудочной железе (рисунок 1).

Ключевой фермент обмена глюкозы, липидов и белков в клетке, АМФК, является гетеротримерным комплексом, состоящим из трёх белков: α -субъединицы, которая обладает собственно киназной активностью, и двух регуляторных субъединиц β и γ . Существует по две изоформы α - и β -субъединиц и 3 изоформы γ -субъединицы, каждая из которых кодируется отдельными генами. Таким образом, в клетке возможно 12 различных вариантов тримерной АМФК, что обеспечивает широкий простор для тонкой регуляции её функции. Учитывая то, что α -субъединица является ключевой и ответственна за киназную активность, ген, кодирующий этот полипептид важен с точки зрения медицины, в целях обнаружения изменений и отклонений, и фармакологии, для разработки новых препаратов для больных ожирением и сахарным диабетом. Генетические вариации гена PRKAA2, кодирующего α -субъединицу АМФК, ассоциированы с инсулинорезистентностью и СД2т (Motoshima H, 2006: 63-71).

В регулировании гомеостаза глюкозы в печени принимают участие не только АМФК, но и киназа LKB1, которая фосфорилирует АМФК, активируя его. Активированная АМФК активирует CREB регулирующий транскрипции коактиватор 2 (CREB regulated transcriptional coactivator – CR2C). Сигнальный путь, названный LKB1-AMPK-TORC2, регулирует не только гомеостаз глюкозы в печени, но и опосредствует

терапевтические эффекты инсулин-чувствительных антидиабетических агентов. В связи с высоким и позиционным участием генов, вовлеченных в АМФК сигнальный каскад и отсутствием предыдущих исследований генов *prkaa2*, *stk11* и *crtc2* у пациентов с СД и раком молочной железы, в данном исследовании мы предположили, что риск развития рака молочной железы может

быть связан с полиморфизмами данных генов. Доказательства, приведенные выше, указывают на то, увеличение риска канцерогенеза связано с уменьшением активности АМФК, активность которой может зависеть от генетических вариантов самого гена *prkaa2*, так и полиморфизмах в генах-участниках сигнального пути *lkb1-ampk-torc2* (Horikoshi M., 2006: 919-923).



Стрелки – положительный эффект, T-образные линии – ингибиторный эффект

Рисунок 1 – Центральная роль АМФК в регулировании метаболизма в органах и метаболических путях (Michael W. King)

Ассоциация гена (*fto*), кодирующий 2-оксиглутарат-зависимую деметилазу нуклеиновых кислот, с полнотой и ожирением была найдена в нескольких геном-ассоциированных исследованиях (genome wide association studies – GWAS) и было показано, что он связан с ожирением и СД 2 типа. Однонуклеотидный полиморфизм в интроне-1 гена *fto* (rs9939609) был ассоциирован с ожирением (Wellcome Trust Case Control Consortium, 2007: 661-678).

Учитывая связь между ожирением, СД и раком молочной железы **целью** нашего исследова-

ния явилась оценка роли полиморфизмов в ключевых генах *prkaa2*, *stk11* и *crtc2* сигнального пути *lkb1-ampk-torc2*, а также в интроне-1 гена *fto* в прогнозировании риска развития РМЖ во взаимосвязи с метаболическим статусом.

Материалы и методы исследования

Рекрутинг участников исследования. Исследование типа «случай-контроль». В исследование были включены женщины с диагнозом рака молочной железы, с метаболическим

синдромом и без него. В контрольную группу рекрутировались женщины с метаболическим синдромом и без, но в анамнезе которых и у их родственников первого родства отсутствует какая-либо форма или тип рака (в том числе и рак простаты). Только после подписания информированного согласия больные и добровольцы становились участниками исследования.

Сбор антропометрических и эпидемиологических данных, физиологических показателей. После подписания информированного согласия у участников собирались антропометрические данные, включающие в себя рост, вес, окружность груди, талии, бедер, индекса массы тела (body mass index – BMI). Индекс массы тела (ИМТ) был рассчитан по следующей формуле:

$$\text{ИМТ}^* = \frac{\text{вес}}{(\text{рост})^2}$$

где вес измеряется в килограммах (кг), рост измеряется в метрах (м).

Для сбора эпидемиологических данных участникам было предложено пройти интервью и анкетирование по специально разработанным опросникам, включающим вопросы по питанию, демографическим характеристикам, истории болезни, семейному анамнезу рака, факторам риска окружающей среды (курению, потреблению алкоголя), физической активности, менструальной и репродуктивной функциям. Физиологические показатели были внесены в базу данных из стационарных медицинских карт. Измерение артериального давления производилось согласно правилам (серия из 3-х измерений с интервалом не менее 2-х минут, показатель давления будет среднеарифметическим значением 3-х измерений) строго перед забором венозной крови.

Забор биологического материала от участников исследования и биобанка образцов. После подписания информированного согласия биологический материал забирался в период с 2015 по 2017 годы в пробирки с содержанием К₂ЭДТА (кровяные клетки и плазма крови) и гелем-активатором свертывания для получения сыворотки. Для определения уровня глюкозы в крови использовались специальные пробирки с К₂ЭДТА и флюоридом натрия, которые стабилизируют уровень глюкозы в пробирке на 24 часа. Пробирки центрифугировали 10 минут при 2000 об/мин. Компоненты крови как сыворотка и плазма аликвотировали по 500 мкл в отдельные пробирки. Пробирки с образцами компонентов крови маркировались и предварительно замора-

живались при температуре -20°C на 8-12 часов. Длительное хранение осуществляется при -86°C в биобанке лаборатории до дальнейшего использования.

Выделение ДНК, анализ качества и количества. ДНК выделяли стандартным методом лизиса с применением фермента протеиназы К с последующим осаждением с помощью изопропанола и очистки этанолом, согласно протоколу набора для выделения ДНК из цельной крови (Wizard™, Promega, США). Качество и количество разведенной ДНК измеряли спектрофотометрически на приборе NanoDrop-2000 (Thermo Fisher Scientific, США). Образцы, не подходящие под критерии качества и количества были перевыделены до достижения необходимых параметров чистоты и концентрации.

Определение метаболических показателей и гормонального статуса участников исследования. Метаболические показатели и гормональный статус участников исследования определяется путем проведения биохимического анализа крови на метаболические показатели, включающий в себя общий белок, альбумин, билирубин, мочевины, креатинин, фолиевую кислоту, гомоцистеин, глюкозу, витамин В₁₂, кальций общий, триглицериды, холестерин высокой и низкой плотности. Гормональный статус участников формировался на основе анализа на гормоны – инсулин, тестостерон, эстрадиол. Анализ на С-пептид, который свидетельствует об уровне превращения преинсулина в полноценный инсулин осуществляли из сыворотки. Все биохимические исследования были осуществлены на приборе Cobas-6000 (Roche Diagnostics GmbH, Германия) с соответствующими наборами реактивов.

Определение генетического профиля участников по полиморфизмам генов PRKAA2, STK11 и CRTCL2, а также интрона-1 гена FTO.

Нормализация ДНК и пулинг осуществляли путем приведения образцов ДНК к единой концентрации. Концентрация образцов была приведена к значению 5 нг/мкл. Образцы помещались в 96-луночную плашку для удобства проведения генотипирования методом ПЦР в реальном времени.

Генотипирование образцов: На основе литературных данных были определены наиболее важные гены, которые ассоциированы с сигнальным путем *lkb1-ampk-torc2*. Гены и соответствующие им полиморфизмы приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Наиболее важные гены, которые ассоциированы с сигнальным путем *lkb1-ampk-torc2*

Ген	Кодируемый белок	Полиморфизм	Последовательность ДНК зонда
<i>PRKAA2</i>	α -субъединица АМФК	rs2051040	AAGATTGTCATAAGAATTAAAAATTC [C/T] * ACCCATGAGCTTGGTAACTCACCTT
<i>STK11</i>	Киназа <i>lkb1</i>	rs8111699	AAGCCTGACTGTGAGAGTGAGCCCC [C/G] * TGCTTTCCTGAACAGTCAGTGGAGG
<i>CRTC2</i>	CREB регулируемый транскрипционный активатор 2	rs11264680	TCTGCAGGGAAATTGCCCCAGGCCA [C/T] * CGTCCTGGGGTAGAAAAACAAAGTC
<i>FTO</i>	2-оксоглутарат-зависимая деметилаза	rs9939609	GGTTCCTTGCAGCTGCTGTGAATTT [A/T] * GTGATGCACTTGGATAGTCTCTGTT

Генотипирование осуществляли методом аллельной дискриминации на приборе 7900HT (Applied Biosystems, Foster City, США) с блоком на 384 лунки. Реакционная смесь, состоящая из 5 мкл 2х мастер микса (2х буфер для реакции, прямой и обратный праймеры, таблица 1), 0,25 мкл 40х ДНК зонда, 10 нг геномной ДНК, была помещена в 384-луночную плашку и амплификация интересующих регионов осуществлялась по следующей программе: денатурация при 95°C – 10 мин, денатурация циклическая при 95°C – 10 сек, отжиг праймеров и ДНК зонда при 50°C – 1,5 мин, элонгация при 60°C – 1 мин, количество циклов – 40. Флуоресцентный сигнал считывался до начала и по окончании реакции. Затем разница сигналов определяла генотип образца.

Статистическая обработка данных. Данные генотипирования, анализа на метаболиты, антропометрии, физиологические и биохимические показатели были занесены в электронную базу данных. Данные подверглись кодированию и перенесены в аналитическую базу данных для статистического анализа с помощью программного обеспечения SPSS22 и SNPStat.

Результаты исследования и их обсуждение

Рекрутинг и эпидемиологическая картина участников исследования

В рамках данного исследования было рекрутировано 59% интервьюированных в группу больных и 53% в группу условно здоровых участников исследования. Данный уровень рекрутинга считается сравнительно ниже среднего и объясняется такими факторами как высокая занятость населения, эмоциональное состояние больных, необходимость забора биоматериала (в случаях группы больных – повторный забор биоматериала), заполнение анкеты и прохождении интервью.

Антропометрические и эпидемиологические данные, а также физиологические показатели представлены в таблице 2.

Эпидемиологические данные показали, что среди участников исследования 51 представительница азиатской и 62 представительницы европейской национальностей. Средний возраст группы больных составил 56,7 лет, условно здоровой группы 46,2 года. Среди сопутствующих заболеваний преобладают артериальная гипертензия, хронический бронхит, ишемическая болезнь сердца (ИБС), миома матки, холецистит, варикозное расширение вен нижних конечностей (ВРВНК), панкреатит. Больные СД2т составили 13,2%. Среди сопутствующих заболеваний также регистрировались пиелонефрит, вегетативная дистония и остеохондроз.

Среди сопутствующих заболеваний большая доля приходится на заболевания сердечно-сосудистой системы и верхних дыхательных путей, что не удивительно, поскольку данные заболевания занимают первые места по частоте в стране (<https://www.nur.kz/945272>).

Определение метаболических показателей и гормонального статуса участников исследования

Биохимический анализ проводился из замороженных аликвот компонентов крови (500 мкл) на метаболические показатели, включающий в себя общий белок, альбумин, билирубин, мочевины, креатинин. Дополнительные анализы на метаболические факторы включали анализ на фолиевую кислоту, гомоцистеин, глюкозу, витамин В12, кальций, триглицериды, холестерин высокой и низкой плотности. Гормональный статус участников формировался на основе анализа на гормоны как инсулин, тестостерон, эстрадиол. Анализ на С-пептид, свидетельствует об уровне превращения преинсулина в полноценный инсулин. Статистически обработанные результаты биохимического анализа представлены в таблице 3.

Таблица 2 – Антропометрические и эпидемиологические данные, физиологические показатели участников исследования

Национальность	Азиаты	Европейцы	Холецистит	Да	Нет
Больные (N=73)	33	40	Больные (N=73)	20	53
Контроль (N=40)	18	22	Контроль (N=40)	8	32
Возраст	Значение		ВРВНК*	Да	Нет
Больные (N=73)	56,73±2,36		Больные (N=73)	22	51
Контроль (N=40)	46,22±2,23		Контроль (N=40)	16	24
Индекс массы тела	<24,99	>25,00	Артериальная гипертензия	Да	Нет
Больные (N=73)	43	30	Больные (N=73)	26	47
Контроль (N=40)	16	24	Контроль (N=40)	21	19
Хронический бронхит	Да	Нет	Панкреатит	Да	Нет
Больные (N=73)	15	58	Больные (N=73)	17	56
Контроль (N=40)	4	36	Контроль (N=40)	12	28
ИБС** (N=113)	Да	Нет	СД2т	Да	Нет
Больные (N=73)	12	61	Больные (N=73)	11	62
Контроль (N=40)	7	33	Контроль (N=40)	4	36
Миома матки (N=113)	Да	Нет	Другие заболевания	Да	Нет
Больные (N=73)	19	52	Больные (N=73)	22	51
Контроль (N=40)	9	33	Контроль (N=40)	16	24

Таблица 3 – Результаты биохимического анализа исследуемой группы

№	Наименование	Норма	Группа больных	Контрольная группа
			Среднее значение	Среднее значение
1	Белок общий, г/л	64-83	74,67 ± 1,73	82,27 ± 6,43
2	Альбумин, г/л	35-52	45,61 ± 1,21	45,93 ± 5,4
3	Мочевина, ммоль/л	2,6-7,2	5,65 ± 1,96	5,06 ± 1,22
4	Креатинин, ммоль/л	44-97	75,16 ± 2,38	68,48 ± 3,08
5	Глюкоза, ммоль/л	3,89-6,38	2,94 ± 0,15	3,94 ± 0,28
6	Кальций общий, ммоль/л	2,15-2,5	2,35 ± 0,31	2,58 ± 0,17
7	Билирубин общий, мкмоль/л	0-21	7,4 ± 1,26	6,22 ± 0,23
8	Холестерин, мкмоль/л	3,63-5,2	5,47 ± 0,36	5,22 ± 0,28
9	Холестерин ЛПВП, мкмоль/л	0-3	1,44 ± 0,13	1,91 ± 0,11
10	Холестерин ЛПНП, мкмоль/л	0-1	3,78 ± 0,38	3,1 ± 0,11
11	Триглицериды, мкмоль/л	0 – 3,7	1,61 ± 0,11	1,05 ± 0,005
12	Витамин В ₁₂ , пг/мл	191-663	768,13 ± 22,45	631,62 ± 18,83
13	Фолиевая кислота, нг/мл	4,4-45,8	10,38 ± 1,34	10,31 ± 0,59
14	Инсулин, МЕ/мл	2,6-24,9	11,84 ± 1,56	8,06 ± 0,14
15	С-пептид, нг/мл	1,1-4,4	3,21 ± 0,61	2,27 ± 0,03
16	Эстрадиол*, пг/мл	12,5-498	28,18 ± 2,51	339,22 ± 3,93
17	Тестостерон, нг/мл	0,06-0,82	0,22 ± 0,002	0,42 ± 0,005
18	Гомоцистеин, мкмоль/л	4,6-12,44	17,11 ± 2,11	11,85 ± 0,15
19	Коэффициент де Ритиса**	0,91-1,75	0,71 ± 0,05	1,33 ± 0,004

№	Наименование	Норма	Группа больных	Контрольная группа
			Среднее значение	Среднее значение
20	АлТ, мккат/л	0,00-0,55	0,63± 0,03	0,38 ± 0,008
21	АсТ, мккат/л	0,00-0,53	0,51± 0,04	0,40 ± 0,006
22	Артериальное давление систолическое, рт.ст.	120	115,61± 6,34	116,43 ± 1,14
23	Артериальное давление диастолическое, рт.ст.	80	75,61 ± 5,02	72,55 ± 1,89
* – Норма эстрадиола варьирует в зависимости от фазы менструального цикла. Фолликулярная фаза (ФФ) – 12,5-166, овуляторная фаза (ОФ) – 85,8-498, лютеиновая фаза (ЛФ) – 43,8-211, постменопауза – 5,0-54,7. В связи с этим, данный гормон является индивидуальным показателем и может быть использован как в норме или за пределами нормами для статистического анализа				
** – Коэффициент де Ритиса был рассчитан для больных, у которых показатели АсТ и/или АлТ превышали норму				

Из таблицы 3 видно, что среднее значение общего белка в обеих группах находится в пределах нормы. Однако, в группе больных и контрольной групп, было 9 и 23 участника соответственно, у которых уровень общего белка превышал верхний предел. Показания общего белка крови позволяют оценить состояние пациента, функцию его органов и систем в работе по поддержанию правильного белкового обмена, а также определить рациональность питания. Также следует отметить, что уровни таких показателей как креатинин, билирубин, холестерин, витамин В₁₂, инсулин, гомоцистеин, АлТ в группе больных, хоть и находятся в пределах нормы, но значения приближены к высшей отметке. Это обуславливается тем, что рак вызывает ряд метаболических сдвигов во всем организме в целом, и может влиять на многие биохимические и метаболические показатели.

Повышенное количество аланинтрансферазы (АлТ) и/или аспартаттрансферазы (АсТ) свидетельствует о нарушениях печени или миокарда (высвобождение ферментов из-за разрушения клеток). Уровень АлТ повышен в группе больных, что может означать то, что метаболические изменения в организме повлекли к дополнительной нагрузке на печень. Только у одного пациента уровень АлТ был 10,7 (при норме 0-0,55), а уровень АсТ – 12,4 (при норме 0-0,53), что свидетельствует о нарушениях печени и сердечно-сосудистой системы. Уровень глюкозы, превышающий норму, был найден у 5 и 2 участников групп больных и контролей соответственно, но все семеро состоят на «Д» учете у эндокринолога с диагнозом СД2т.

Следует отметить, нормы эстрадиола привести к общему знаменателю очень сложно, поскольку нормы данного гормона напрямую

зависят от менструального цикла, включая постменопаузу, где уровень данного гормона наименьший (см. примечание к таблице 3). В контрольной группе уровень данного гормона составляет 339,22 пг/мл, когда в группе больных он 28,18 пг/мл, что в 12 раз меньше по сравнению с контрольной группой. Это обуславливается тем, что в группе больных, женщины в постменопаузе преобладают (почти 80%) и уровень данного гормона у них равен 5 пг/мл. Когда в контрольной группе доля женщин в менопаузе составляет лишь 23,9%.

Многие исследования доказали связь уровня гомоцистеина с нейрологическими, сердечно-сосудистыми заболеваниями (Ganguly P, 2015), а также с раком толстой кишки и молочной железы (Ferroni P, 2009: 4131-4138; Zhang SM, 2003: 373-380). В наших исследуемых группах уровень гомоцистеина повышен у больных раком молочной железы и в норме у контрольной группы, что подтверждает ранние исследования.

В обеих группах наблюдался повышенный уровень холестерина и ЛПНП, в контрольной группе уровень общего кальция был выше нормы, когда в группе больных он был приближен к верхней отметке нормы.

Показатели витамин В₁₂ в группе больных превышало показатели нормы. Некоторые исследования показали, что у женщин с диагнозом РМЖ увеличивается содержание витамина В₁₂ в крови (Arendt JFB, 2015: 1799–1805). Витамин В₁₂ поддерживает правильную нервную функцию, участвует в синтезе ДНК, образовании клеток крови и производстве аминокислот. Это может быть обусловлено тем, что для быстро развивающаяся опухолевой ткани необходимы «строительные материалы», которые необходимы для ее прогрессии.

Из вышеописанного следует, что из 18 биохимических показателей метаболических индикаторов, гомоцистеин может быть использован в качестве биомаркера, входящего в комплекс факторов, используемых при прогнозе риска развития рака молочной железы. Такие показатели как АлТ и АсТ, витамин В₁₂, С-пептид, холестерин и ЛПВП с ЛПНП, кальций, могут быть косвенными показателями при диагностировании заболевания как рак молочной железы.

Определение генетического профиля участников по полиморфизмам генов *PRKAA2*, *STK11* и *CRTC2*, а также интрона-1 гена *FTO*

К ключевым генам сигнального пути *lkb1-ampk-torc2* относятся гены *stk11* (кодирующие

печеночную киназу LKB1), *prkaa2* (кодирующий α -субъединицу АМФК) и *crtc2* (кодирующий CREB регулируемый транскрипционный активатор 2). К исследованию был добавлен ген *fto*, кодирующий 2-оксоглутарат-зависимую деметилазу. Связь этого гена с ожирением и метаболическим синдромом была подтверждена во многих популяциях. Учитывая то, что МС является кластером патологических нарушений, включающий в себя абдоминальное ожирение, инсулинорезистентность, повышенное артериальное давление и дислипидемию, генов, играющих в его формировании большое количество нами были изучены полиморфизмы в ключевых генах сигнального пути *lkb1-ampk-torc2* (таблица 4).

Таблица 4 – Полиморфизмы выбранных генов сигнального пути LKB1-AMPK-TORC2 и гена FTO

Ген	Кодируемый белок	Полиморфизм	Последовательность ДНК зонда
<i>prkaa2</i>	α -субъединица АМФК	rs2051040	AAGATTGTCATAAGAATTAAAATTC [C/T] * ACCCATGAGCTTGGTAACTCACCTT
<i>stk11</i>	Киназа LKB1	rs8111699	AAGCCTGACTGTGAGAGTGAGCCCC [C/G] * TGCTTTCCTGAACAGTCAGTGGAGG
<i>crtc2</i>	CREB регулируемый транскрипционный активатор 2	rs11264680	TCTGCAGGGAAATTGCCCCAGGCCA [C/T] * CGTCCTGGGGTAGAAAAACAAGTC
<i>fto</i>	2-оксоглутарат-зависимая деметилаза	rs9939609	GGTTCCTTGCAGACTGCTGTGAATTT [A/T] * GTGATGCACTTGGATAGTCTCTGTT

* – позиция мутации

Генотипирование осуществляли согласно протоколу производителя. Разделение генотипов проводили методом аллельной дискриминации.

Результаты генотипирования по генам сигнального пути *LKB1-AMPK-TORC2* представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Распределение генотипов среди участников исследования

Ген	Аллель	Больные	Контроль	Ген	Аллель	Больные	Контроль
<i>prkaa2</i>	C/C	35	25	<i>CRTC2</i>	T/T	44	25
	C/T	25	11		C/T	25	14
	T/T	13	4		C/C	4	1
<i>stk11</i>	C/C	40	27	<i>FTO</i>	A/A	40	24
	G/C	22	9		T/A	25	11
	G/G	11	4		T/T	8	5

Из таблицы видно, что распределение мутантного генотипа в группе больных по генам *prkaa2*, *stk11*, *crtc2* и *fto* составило 17,8%, 15%, 5,5% и 10,9% соответственно. В контрольной группе

данный аллель представлен 10%, 10%, 2,5% и 12,5% соответственно. Данные генотипирования исследованной группы соответствуют литературным данным и не показали отклонений.

Статистическая обработка данных

Для осуществления анализа корреляции биохимических показателей с риском развития рака молочной железы, данные были разделены на категории норма и отклонение. Данные статистической обработки данных представлены в таблице 6.

Данные корреляции биохимических показателей с риском развития рака молочной железы выявили значимую корреляцию с уровнем гомоцистеина (ОШ=15,29; ДИ = 5,67-41,28; значение $p < 0.001$). Из данных этого анализа следует, что уровень гомоцистеина может быть использован

как биомаркер, входящий в состав комплекса диагностических мер при раке молочной железы.

Статистический анализ корреляции генотипов указанных генов с риском развития рака молочной железы не показал наличие связи. Однако, генотипирование по гену *stk11* показало тенденцию к предрасположенности (таблица 7). Учитывая то, что участники исследования представляют азиатскую и европеоидную расы, полученные результаты могут иметь погрешности в распределении генотипов. К тому же, для выявления корреляции по другим показателям необходимо увеличить выборку.

Таблица 6 – Статистический анализ корреляции биохимических показателей с риском развития РМЖ

Случай/контроль	Отношение шансов	Стандартная ошибка	z	P>z	[95% Доверительный интервал	
Инсулин	1,70	0,63	1,47	0.140	0,85	3,48
Гомоцистеин	15,29	7,75	5,38	<0.001	5,67	41,28
Витамин В12	1,49	0,67	0,90	0.369	0,62	3,60
Триглицериды	3,15	3,85	0,94	0.347	0,29	34,49
Холестерин	1,97	0,90	1,48	0.139	0,80	4,84
Глюкоза	0,65	0,28	-1,01	0.313	0,28	1,51
Кальций	0,02	0,16	-5,63	<0.001	0,01	0,09

Таблица 7 – Результаты статистической обработки данных

Случай/контроль	Отношение шансов	Стандартная ошибка	z	P>z	95% Доверительный интервал	
<i>prkaa2</i>	0,99	0,19	-0,01	0,99	0,68	1,47
<i>crtc2</i>	0,77	0,16	-1,28	0,2	0,51	1,15
<i>stk11</i>	0,73	0,14	-1,66	0,09	0,51	1,06
<i>fto</i>	0,79	0,16	-1,15	0,25	0,53	1,18

Заключение

Исследование генетического профиля, метаболического синдрома и риска развития рака молочной железы среди женщин Казахстана показало, что среди сопутствующих заболеваний преобладают артериальная гипертензия, хронический бронхит, ишемическая болезнь сердца, миома матки, холецистит, варикозное расширение вен нижних конечностей, панкреатит. В исследуемой группе больные сахарным диабетом 2-типа составили 13,2%. Из 18 биохимических показателей метаболи-

ческих индикаторов, гомоцистеин и витамин В₁₂ в группе больных превышали показатели нормы. Данные корреляции биохимических показателей с риском развития рака молочной железы выявили значимую корреляцию с уровнем гомоцистеина (ОШ=15,29; ДИ = 5,67 – 41,28; значение $p < 0.001$). Из данных анализа следует, что уровень гомоцистеина может быть использован как биомаркер, входящий в состав комплекса диагностических мер при раке молочной железы. Статистический анализ корреляции генотипов указанных генов с риском развития рака молочной железы не

показал наличие связи. Однако, генотипирование по гену *stk11* показало предположительную связь данной мутации с риском развития рака молочной железы.

Данная работа была выполнена в рамках программно-целевого финансирования «Создание и развитие основ геномной медицины в Казахстане» на 2015-2017 годы.

Литература

- Ferlay J., Soerjomataram I., Dikshit R., Eser S., Mathers C., Rebelo M., Parkin D.M., Forman D., Bray F. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 // *Int J Cancer*. – 2015. – Vol. 136, No. 5, – P. e359-86. doi: 10.1002/ijc.29210.
- Howlander N. National Cancer Institute. Breast Cancer Risk Factors. <http://www.cancer.gov/cancertopics/wyntk/breast/page4>.
- Grundy S.M., Brewer H.B. Jr., Cleeman J.I., Smith S.C. Jr, Lenfant C. Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition // *Circulation*. – 2004. – Vol. 109, No. 3. – P. 433–438.
- Reaven G.M. Role of insulin resistance in human disease // *Diabetes*. – 1988. – Vol. 37, No. 12. – P. 1595–1607.
- World Health Organization. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and Its Complications: Report of a WHO Consultation. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 1999.
- Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report // *Circulation*. – 2002. – Vol. 106, No. 25. – P. 3143–3421.
- Grundy S.M. Metabolic syndrome pandemic // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2008. – Vol. 28. – P. 629–636.
- Esposito K., Chiodini P., Capuano A., et al. Metabolic syndrome and postmenopausal breast cancer: systematic review and meta-analysis // *Menopause*. – 2013. – Vol. 20, No. 12. – P. 1301–1309.
- Osaki Y., Taniguchi S.I., Tahara A., Okamoto M., Kishimoto T. Metabolic syndrome and incidence of liver and breast cancers in Japan // *Cancer Epidemiology*. – 2012. – Vol. 36, No. 2. – P. 141–147.
- Rosato V., Bosetti C., Talamini R., et al. Metabolic syndrome and the risk of breast cancer in postmenopausal women // *Annals of Oncology*. – 2011. – Vol. 22, No. 12. – P. 2687–2692.
- van den Brandt P.A., Spiegelman D., Yaun S.-S., et al. Pooled analysis of prospective cohort studies on height, weight, and breast cancer risk // *American Journal of Epidemiology*. – 2000. – Vol. 152, No. 6. – P. 514–527.
- Harvie M., Hooper L., Howell A.H. Central obesity and breast cancer risk: a systematic review // *Obesity Reviews*. – 2003. – Vol. 4, No. 3. – P. 157–173.
- Michels K.B., Solomon C.G., Hu F.B., et al. Type 2 diabetes and subsequent incidence of breast cancer in the nurses' health study // *Diabetes Care*. – 2003. – Vol. 26, No. 6. – P. 1752–1758.
- Ursin G., Longnecker M.P., Haile R.W., et al. A meta-analysis of body mass index and risk of premenopausal breast cancer // *Epidemiology*. – 1995. – Vol. 6, No. 2. – P. 137–141.
- de Waard F., Baanders van Halewijn E.A. A prospective study in general practice on breast cancer risk in postmenopausal women // *International Journal of Cancer*. – 1974. – Vol. 14, No. 2. – P. 153–160.
- Mink P.J., Shahar E., Rosamond W.D., et al. Serum insulin and glucose levels and breast cancer incidence: the atherosclerosis risk in communities study // *The American Journal of Epidemiology*. – 2002. – Vol. 156, No. 4. – P. 349–352.
- Tomberg S.A., Holm L.-E., Carstensen J.M. Breast cancer risk in relation to serum cholesterol, serum beta-lipoprotein, height, weight, and blood pressure // *Acta Oncologica*. – 1988. – Vol. 27, No. 1. – P. 31–37.
- Soler M., Chatenoud L., Negri E., Parazzini F., Franceschi S., La Vecchia C. Hypertension and hormone-related neoplasms in women // *Hypertension*. – 1999. – Vol. 34, No. 2. – P. 320–325.
- Largent JA, McEligot AJ, Ziogas A. Hypertension, diuretics and breast cancer risk // *Journal of Human Hypertension*. – 2006. – Vol. 20, No. 10. – P. 727–732.
- Rose D.P., Haffner S.M., Baillargeon J. Adiposity, the metabolic syndrome, and breast cancer in African-American and white American women // *Endocrine Reviews*. – 2007. – Vol. 28, No. 7. – P. 763–777.
- Liao S., Li J., Wei W. Association between diabetes mellitus and breast cancer risk: a meta-analysis of the literature // *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. – 2011. – Vol. 12, No. 4. – P. 1061–1065.
- Jarde T., Perrier S., Vasson M.P. Molecular mechanisms of leptin and adiponectin in breast cancer // *European Journal of Cancer*. – 2011. – Vol. 47, No. 1. – P. 33–43.
- Goldberg J.E., Schwertfeger K.L. Proinflammatory cytokines in breast cancer: mechanisms of action and potential targets for therapeutics // *Current Drug Targets*. – 2010. – Vol. 11, No. 9. – P. 1133–1146.
- Fei X. and Michels K.B. Diabetes, metabolic syndrome and breast cancer: a review of the current evidence // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2007. – Vol. 86. – P. 823–835.
- King M.W. AMPK: Master Metabolic Regulator // *Medical Biochemistry*. <http://themedicalbiochemistrypage.org/ampk.php>.
- Motoshima H., Goldstein B.J., Igata M., Araki E. AMPK and cell proliferation – AMPK as a therapeutic target for atherosclerosis and cancer // *J. Physiol.* – 2006. – Vol. 574. – P. 63–71.

Horikoshi M., Hara K., Ohashi J., Miyake K., Tokunaga K., Ito Ch., Kasuga M., Nagai R., Kadowaki T.A. Polymorphism in the AMPK2 Subunit Gene Is Associated With Insulin Resistance and Type 2 Diabetes in the Japanese Population // *Diabetes*. – 2006. – Vol. 55. – P. 919–923.

<https://www.nur.kz/945272-sovremennoe-sostoyanie-problemy-serd.html>.

Ganguly P., Alam S.F. Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease // *Nurt. J.* – 2015. – Vol. 14, No. 6. doi: 10.1186/1475-2891-14-6.

Ferroni P., Palmirotta R., Martini F., Riondino S., Savonarola A., Spila A., Ciatti F., Sini V., Mariotti S., Del Monte G., Roselli M., Guadagni F. Determinants of homocysteine levels in colorectal and breast cancer patients // *Anticancer Res.* – 2009. – Vol. 29, No. 10. – P. 4131-4138.

Zhang S.M., Willett W.C., Selhub J., Hunter D.J., Giovannucci E.L., Holmes M.D., Colditz G.A., Hankinson S.E. Plasma Folate, Vitamin B6, Vitamin B12, Homocysteine, and Risk of Breast Cancer // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2003. – Vol. 95, No. 5. – P. 373-380. doi: 10.1093/jnci/95.5.373.

Arendt J.F.B. et al. Elevated Plasma Vitamin B12 Levels as a Marker for Cancer: A Population-Based Cohort Study // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2013. – Vol. 105, No. 23. – P. 1799–1805.

References

Arendt J.F.B. et al. (2013) Elevated Plasma Vitamin B12 Levels as a Marker for Cancer: A Population-Based Cohort Study. *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 105, no. 23, pp. 1799–1805.

de Waard F., Baanders van Halewijn E.A. (1974) A prospective study in general practice on breast cancer risk in postmenopausal women. *International Journal of Cancer*, vol. 14, no. 2, pp. 153–160.

Esposito K., Chiodini P., Capuano A. et al. (2013) Metabolic syndrome and postmenopausal breast cancer: systematic review and meta-analysis. *Menopause*, vol. 20, no. 12, pp. 1301–1309.

Fei X. and Michels K.B. (2007) Diabetes, metabolic syndrome and breast cancer: a review of the current evidence. *Am. J. Clin. Nutr.*, vol. 86, pp. 823-835.

Ferlay J., Soerjomataram I., Dikshit R., Eser S., Mathers C., Rebelo M., Parkin D.M., Forman D., Bray F. (2015) Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int. J. Cancer*, vol. 136, no. 5, pp. e359-86. doi: 10.1002/ijc.29210.

Ferroni P., Palmirotta R., Martini F., Riondino S., Savonarola A., Spila A., Ciatti F., Sini V., Mariotti S., Del Monte G., Roselli M., Guadagni F. (2009) Determinants of homocysteine levels in colorectal and breast cancer patients. *Anticancer Res.*, vol. 29, no. 10, pp. 4131-4138.

Ganguly P., Alam S.F. (2015) Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease. *Nurt. J.*, vol. 14, no. 6. doi: 10.1186/1475-2891-14-6.

Goldberg J.E., Schwertfeger K.L. (2010) Proinflammatory cytokines in breast cancer: mechanisms of action and potential targets for therapeutics. *Current Drug Targets*, vol. 11, no. 9, pp. 1133–1146.

Grundy S.M., Brewer H.B. Jr., Cleeman J.I., Smith S.C. Jr., Lenfant C. (2004) Definition of metabolic syndrome: report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation*, vol. 109, no. 3, pp. 433–438.

Grundy S.M. (2008) Metabolic syndrome pandemic. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, vol. 28, pp. 629–636.

Harvie M., Hooper L., Howell A.H. (2003) Central obesity and breast cancer risk: a systematic review. *Obesity Reviews*, vol. 4, no. 3, pp. 157–173.

Horikoshi M., Hara K., Ohashi J., Miyake K., Tokunaga K., Ito Ch., Kasuga M., Nagai R., Kadowaki T. (2006) A Polymorphism in the AMPK2 Subunit Gene Is Associated With Insulin Resistance and Type 2 Diabetes in the Japanese Population. *Diabetes*, vol. 55, pp. 919–923.

Howlander N. National Cancer Institute. Breast Cancer Risk Factors. <http://www.cancer.gov/cancertopics/wyntk/breast/page4>. <https://www.nur.kz/945272-sovremennoe-sostoyanie-problemy-serd.html>.

Jarde T., Perrier S., Vasson M.P. (2011) Molecular mechanisms of leptin and adiponectin in breast cancer. *European Journal of Cancer*, vol. 47, no. 1, pp. 33–43.

King M.W. AMPK: Master Metabolic Regulator. *Medical Biochemistry*. <http://themedicalbiochemistrypage.org/ampk.php>.

Largent J.A., McEligot A.J., Ziogas A. (2006) Hypertension, diuretics and breast cancer risk. *Journal of Human Hypertension*, vol. 20, no. 10, pp. 727–732.

Liao S., Li J., Wei W. (2011) Association between diabetes mellitus and breast cancer risk: a meta-analysis of the literature. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, vol. 12, no. 4, pp. 1061–1065.

Michels K.B., Solomon C.G., Hu F.B. et al. (2003) Type 2 diabetes and subsequent incidence of breast cancer in the nurses' health study. *Diabetes Care*, vol. 26, no. 6, pp. 1752–1758.

Mink P.J., Shahar E., Rosamond W.D. et al. (2002) Serum insulin and glucose levels and breast cancer incidence: the atherosclerosis risk in communities study. *The American Journal of Epidemiology*, vol. 156, no. 4, pp. 349–352.

Motoshima H., Goldstein B.J., Igata M., Araki E. (2006) AMPK and cell proliferation – AMPK as a therapeutic target for atherosclerosis and cancer. *J. Physiol.*, vol. 574, pp. 63–71.

Osaki Y., Taniguchi S.I., Tahara A., Okamoto M., Kishimoto T. (2012) Metabolic syndrome and incidence of liver and breast cancers in Japan. *Cancer Epidemiology*, vol. 36, no. 2, pp. 141–147.

Reaven G. M. (1988) Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*, vol. 37, no. 12, pp. 1595–1607.

Rosato V., Bosetti C., Talamini R. et al. (2011) Metabolic syndrome and the risk of breast cancer in postmenopausal women. *Annals of Oncology*, vol. 22, no. 12, pp. 2687–2692.

Rose D.P., Haffner S.M., Baillargeon J. (2007) Adiposity, the metabolic syndrome, and breast cancer in African-American and white American women. *Endocrine Reviews*, vol. 28, no. 7, pp. 763–777.

Soler M., Chatenoud L., Negri E., Parazzini F., Franceschi S., La Vecchia C. (1999) Hypertension and hormone-related neoplasms in women. *Hypertension*, vol. 34, no. 2, pp. 320–325.

Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*, vol. 106, no. 25, pp. 3143–3421.

Tornberg S.A., Holm L-E., Carstensen J.M. (1988) Breast cancer risk in relation to serum cholesterol, serum beta-lipoprotein, height, weight, and blood pressure. *Acta Oncologica*, vol. 27, no. 1, pp. 31–37.

Ursin G., Longnecker M.P., Haile R.W. et al. (1995) A meta-analysis of body mass index and risk of premenopausal breast cancer. *Epidemiology*, vol. 6, no. 2, pp. 137–141.

van den Brandt P.A., Spiegelman D., Yaun S-S. et al. (2000) Pooled analysis of prospective cohort studies on height, weight and breast cancer risk. *American Journal of Epidemiology*, vol. 152, no. 6, pp. 514–527.

World Health Organization. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and Its Complications: Report of a WHO Consultation. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 1999.

Zhang S.M., Willett W.C., Selhub J., Hunter D.J., Giovannucci E.L., Holmes M.D., Colditz G.A., Hankinson S.E. (2003) Plasma Folate, Vitamin B6, Vitamin B12, Homocysteine, and Risk of Breast Cancer. *J. Natl. Cancer Inst.*, vol. 95, no. 5, pp. 373–380. doi: 10.1093/jnci/95.5.373.