

УДК 616-092+575:599.9

Роль метилирования генов системы апоптоза в патогенезе рака молочной железы и яичников

Филиппова Е.А.¹, Бурденный А.М.¹, Лукина С.С.¹, Пронина И.В.¹, Казубская Т.П.², Брага Э.А.¹, Логинов В.И.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии». 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 115478, Москва, Каширское ш., д. 23

Актуальность. Рак молочной железы (РМЖ) и рак яичников (РЯ) наиболее часто диагностируемые типы рака у женщин, характеризующиеся своими клиническими особенностями, включая тяжёлое течение болезни и неблагоприятный прогноз. В России ежегодно умирают от этих видов опухолей более 29000 человек. Важную роль в патогенезе рака играет aberrантное метилирование CpG-островков промоторных областей в генах системы апоптоза. Ранее появились сообщения о гиперметилировании генов DAPK1, APAF1, BCL2, TP53 в некоторых видах опухолей. Однако, данные о роли метилирования этой группы генов в прогрессии РМЖ и РЯ представлены единичными сообщениями, а для генов BIM, BAX до настоящего момента до сих пор не представлены.

Целью настоящей работы явилось исследование роли метилирования шести генов системы апоптоза, а именно, про-апоптотических генов APAF1, DAPK1, BIM, BAX, TP53, а также анти-апоптотического гена BCL2 в прогрессии РМЖ и РЯ.

Методы. Образцы опухолей РМЖ и РЯ собраны и клинически охарактеризованы в НИИ клинической онкологии ФГБУ РОНЦ имени Н.Н. Блохина. Высокомолекулярную ДНК выделяли из ткани стандартным методом. Анализ уровня метилирования проводили с применением бисульфитной конверсии ДНК и количественной метилспецифичной ПЦР (МС-ПЦР) с детекцией в реальном времени. Для оценки значимости различий между исследуемыми группами применяли непараметрический критерий Манна-Уитни для независимых выборок.

Результаты. Показано статистически значимое ($p < 0,05$) увеличение уровня метилирования генов BCL2, DAPK1 и BAX в образцах опухолей по сравнению с парной гистологически нормальной тканью яичников. При РМЖ наблюдали гиперметилирование четырёх про-апоптотических генов (DAPK1, APAF1, BIM, BAX) и, напротив, гипометилирование BCL2. Кроме того, нами выявлено, что уровень метилирования промоторных CpG-островков генов DAPK1, BIM, BAX, APAF1 статистически значимо коррелирует с клинической стадией ($p < 0,001$), с размером опухоли ($p < 0,02$), а для генов BIM, BAX – с метастазированием ($p < 0,02$) при РМЖ. Также нами было показано, что уровень метилирования гена BAX значимо коррелирует с клинической стадией; размером опухоли и с метастазированием при РЯ ($p < 0,05$).

Заключение. Полученные нами данные показывают, какую роль метилирование исследованных генов апоптоза играет в возникновении и прогрессии РЯ и РМЖ и позволяют оценить их влияние на патофизиологический профиль опухолей яичников и молочной железы.

Ключевые слова: метилирование; апоптоз; рак молочной железы; рак яичников.

Благодарности. Авторы благодарят сотрудников Российского онкологического научного центра имени Н.Н. Блохина за сбор и клинико-гистологическую характеристику образцов РМЖ и РЯ.

Для цитирования: Филиппова Е.А., Бурденный А.М., Лукина С.С., Пронина И.В., Казубская Т.П., Брага Э.А., Логинов В.И. Роль метилирования генов системы апоптоза в патогенезе рака молочной железы и яичников. *Патогенез* 2021; 19(3): 55-61.

DOI: 10.25557/2310-0435.2021.03.55-61

Для корреспонденции: Бурденный Алексей Михайлович, e-mail: burdennyu@gmail.com; Логинов Виталий Игоревич, e-mail: loginov7w@gmail.com

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Государственного задания № 0520-2020-0030.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 24.06.2021.

The role of apoptosis gene methylation in the pathogenesis of breast and ovarian cancer

Filippova E.A.¹, Burdennyu A.M.¹, Lukina S.S.¹, Pronina I.V.¹, Kazubskaya T.P.², Braga E.A.¹, Loginov V.I.¹

¹ Institute of General Pathology and Pathophysiology, Baltiyskaya St. 8, Moscow 125315, Russian Federation

² N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Kashirskoe Shosse 23, Moscow 115478, Russian Federation

Background. Breast cancer (BC) and ovarian cancer (OC) are the most commonly diagnosed types of cancer in women, which are characterized by severe course and unfavorable prognosis. In Russia, more than 29,000 people die from these types of tumors every year. Aberrant methylation of CpG islands located in the promoter regions of apoptosis genes play an important role in the pathogenesis of this disease. Previously, there were reports of hypermethylation of the DAPK1, APAF1, BCL2, and TP53 genes in some types of tumors. However, reports of the role of the gene methylation in the progression of BC and OC are scarce, and for the BIM and BAX genes, this information is absent. The **aim** of this study was to elucidate the role of methylation for six genes of the apoptosis system, namely, the pro-apoptotic genes APAF1, DAPK1, BIM, BAX, TP53, as well as the anti-apoptotic gene BCL2, in the progression of BC and OC.

Methods. Samples of breast and ovarian tumors were collected and clinically characterized at the N.N. Blokhin Research Institute of Clinical Oncology. High molecular weight DNA was isolated from the tissue using standard methods. The methylation

degree was assessed by bisulfite DNA conversion and real-time quantitative methylation-specific PCR (MS-PCR). Significance of differences between the study groups was determined with the nonparametric Mann-Whitney test for independent samples.

Results. The degree of *BCL2*, *DAPK1*, and *BAX* gene methylation was significantly increased ($p < 0.05$) in tumor samples compared to matched histologically normal ovarian tissue. Hypermethylation of four pro-apoptotic genes (*DAPK1*, *APAF1*, *BIM*, and *BAX*) and, in contrast, hypomethylation of *BCL2* were observed in BC. In addition, in BC, the promoter CpG island methylation of *DAPK1*, *BIM*, *BAX*, *APAF1* genes significantly correlated with the clinical stage ($p < 0.001$), and with the tumor size ($p < 0.02$) whereas for *BIM* and *BAX* genes, the methylation degree correlated with metastasis ($p < 0.02$). In OC, the methylation degree of the *BAX* gene significantly correlated with the clinical stage, with the tumor size, and with metastasis ($p < 0.05$).

Conclusion. The results of this study showed the role of apoptosis gene methylation in the development and progression of BC and OC and also allowed evaluating their influence on the pathophysiological profile of ovarian and breast tumors.

Key words: methylation; apoptosis; breast cancer; ovarian cancer.

Acknowledgments. The authors are grateful to the staff of the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology for the collection and clinical and histological characterization of BC and OC samples.

For citation: Filippova E.A., Burdenny A.M., Lukina S.S., Pronina I.V., Kazubskaya T.P., Braga E.A., Loginov V.I. [The role of apoptosis gene methylation in the pathogenesis of breast and ovarian cancer]. *Patogenez [Pathogenesis]* 2021; 19(3): 55-61. (in Russian).

DOI: 10.25557/2310-0435.2021.03.55-61

For correspondence: Aleksey M. Burdenny, e-mail: burdenny@gmail.com;

Vitaly I. Loginov, e-mail: loginov7w@gmail.com

Funding. The study was performed as a part of the State Assignment #0520-2020-0030.

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

Accepted: 24.06.2021.

Введение

Рак молочной железы (РМЖ) и рак яичников (РЯ) — наиболее часто диагностируемые типы рака у женщин, характеризующиеся высокой частотой неблагоприятного исхода у РЯ, и тяжёлым течением ряда подтипов РМЖ. Ежегодно в мире регистрируют 2,1 млн случаев РМЖ и 225 тысяч случаев РЯ. В мире суммарная смертность от РМЖ и РЯ в 2020 году достигла 800 000, что составляет примерно 9% всех случаев смерти от рака среди женщин [1]. В России ежегодно умирают от этих видов опухолей более 29 000 человек [2].

Важную роль в патогенезе РМЖ и РЯ играют эпигенетические нарушения в генах, ответственных за поддержание нормального функционирования клетки, её защиты от факторов внешней среды и поддержание структурной целостности, в том числе в генах системы программируемой клеточной гибели, или апоптоза. Существует два пути активации этой системы: рецептор-зависимый (внешний сигнальный путь с участием семейства рецепторов фактора некроза опухолей (TNFR), так называемых «рецепторов смерти»), и рецептор-независимый (внутренний митохондриальный) [3, 4].

Одним из основных генов, участвующих в рецептор-зависимом сигнальном пути активации апоптоза, является ген *DAPK1* (*Death-associated protein kinase 1*, локализованный в локусе 9q21.33). При реакции стимуляции (например, апоптотическими индукторами, онкогенами), увеличивается экспрессия pDAPK1, в результате чего опосредованно происходит активация p53 через p14/p19ARF путь, что, в конечном счете, приводит к апоптозу [4].

Митохондриальный путь активации апоптоза индуцируется повреждением ДНК, действием радиации, цитотоксических агентов, глюкокортикоидов, укорочени-

ем до критического уровня теломер и т.д. Он связан с активацией белка p53 и экспрессией генов *BCL2L11/BIM* (*BCL2 like 11/BCL-2-interacting mediator of cell death*, 2q13) и *BAX* (*BCL-2 associated x protein*, 19q13.33), кодирующих проапоптотические белки *Bim* и *Bax* [5]. Эти белки вызывают повышение проницаемости мембраны митохондрий, в результате чего через измененную мембрану митохондрий в цитоплазму поступает апоптотический белок цитохром *C*, который вместе с белковым продуктом гена *APAF1* (*Apoptosis Protease Activating Factor-1*, 12q23.1) образует комплекс с прокаспазой-9, необходимый для протекания процесса апоптоза [4]. Напротив, белковый продукт гена *BCL2* (*B-cell lymphoma 2*, 18q21.3) способствует понижению проницаемости мембраны митохондрий и может остановить процесс апоптоза на стадии конденсации хроматина, пока процесс остается обратимым (пре-апоптоз). Кроме того, *Bcl-2* образует комплекс с фактором апоптоза *Araf-1*, что сдерживает активацию каспазозависимого пути апоптоза [5].

Эпигенетические механизмы, включая метилирование CpG-островков промоторных областей, играют критическую роль в регуляции экспрессии многих генов и сигнальных путей, задействованных в патогенезе онкологических заболеваний, в частности РМЖ и РЯ [6, 7]. Ранее имелись сообщения о гиперметилировании генов *DAPK1*, *APAF1*, *BCL2*, *TP53* в некоторых видах опухолей, но данные о роли метилирования этих генов в прогрессии РМЖ и РЯ представлены единичными сообщениями [8, 9]. Вопрос о роли метилирования промоторных CpG-островков в регуляции активности генов *BIM*, *BAX* и патогенезе РМЖ и РЯ не выяснен.

Таким образом, целью данной работы являлось исследование роли метилирования шести генов системы апоптоза, а именно, про-апоптотических генов *APAF1*, *DAPK1*, *BIM*, *BAX*, *TP53*, а также анти-апоптотического гена

BCL2, в прогрессии РМЖ и РЯ с применением современных молекулярных методов исследования.

Материалы и методы исследования

Образцы опухолей РМЖ и РЯ собраны и клинически охарактеризованы в НИИ клинической онкологии ФГБУ РОНЦ имени Н.Н. Блохина. Работа проведена с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности в соответствии с «Основами законодательства РФ об охране здоровья граждан»; получено разрешение локального этического комитета, а также информированное согласие больных.

Все опухоли были классифицированы в соответствии с TNM-классификацией Международного противоракового союза и гистологически верифицированы на основании критериев классификации ВОЗ [10, 11]. В табл. 1 приведены обобщенные данные по клинико-патоморфологическим характеристикам исследованных парных образцов РМЖ и РЯ (70 и 52, соответственно). В качестве второго (абсолютного) контроля использованы образцы тканей молочной железы и яичников (17 и 15, соответственно), полученных от людей, умерших от неонкологических заболеваний, и не имевших онкологических заболеваний в анамнезе.

Высокомолекулярную ДНК выделяли из ткани стандартным методом. Анализ уровня метилирования проводили с применением бисульфитной конверсии ДНК и количественной метилспецифичной ПЦР (МС-ПЦР) с детекцией в реальном времени, как описано в работе [12]. Последовательности олигонуклеотидов и условия проведения ПЦР взяты из [13].

Статистический анализ. Статистическую оценку полученных данных по изменению уровня метилирования проводили с применением показателя индекса

метилирования (ИМ), рассчитанного для каждого образца по формуле:

$$\text{ИМ} = 100\% \times (\text{число метилированных копий гена (M)} / (\text{число метилированных копий гена (M)} + \text{число неметилированных копий гена (U)}))$$

ИМ представляет собой непрерывное значение от 0 до 100%, при этом ИМ = 0% представляет полное отсутствие метилирования, ИМ = 100% означает полное метилирование гена.

Для оценки значимости различий между исследуемыми группами применяли непараметрический критерий Манна-Уитни для независимых выборок. Различия считали значимыми при $p < 0,05$. Расчеты проводили в системе для статистического анализа данных IBM SPSS Statistics 22, данные выражали в виде медианы (Me), нижнего (Q1) и верхнего (Q3) квартилей.

Результаты исследования

Проведённые исследования не выявили статистически значимого изменения уровня метилирования исследованных генов в образцах гистологически неизменной прилежащей к опухоли ткани молочной железы и яичников относительно уровня метилирования их же в контрольных образцах. Значимые ($p < 0.05$) различия уровней метилирования в первичных опухолях РМЖ и РЯ, по сравнению с условной нормой, найдены для 5 из 6 генов, соответственно (табл. 2).

Для генов *DAPK1*, *VIM*, *BAX* и *APAF1* показано статистически значимое увеличение уровня метилирования в опухолевой ткани по сравнению с нормальной тканью в образцах РМЖ, и для генов *DAPK1* и *BAX* – в образцах РЯ.

Напротив, статистически значимое деметилирование отмечено у анти-апоптозного гена *BCL2* (метилиро-

Таблица 1

Клинико-патоморфологические параметры больных

Клинико-патоморфологический параметр		РМЖ <i>n</i> = 70, (%)	РЯ <i>n</i> = 52, (%)
Стадия опухолевого процесса	I	9 (12,9)	11 (21,2)
	II	37 (52,9)	11 (21,2)
	III	23 (32,9)	29 (55,7)
	IV	1 (1,4)	1 (1,9)
Степень дифференцировки	G1	6 (8,6)	7 (13,5)
	G2	51 (72,9)	17 (32,7)
	G3	13 (18,6)	28 (53,8)
Размер первичной опухоли	T1	13 (18,6)	11 (21,2)
	T2	43 (61,4)	11 (21,2)
	T3	8 (11,4)	30 (57,6)
	T4	6 (8,6)	0 (0,0)
Лимфогенное метастазирование	N0	28 (40)	31 (59,6)
	N1-3	42 (60)	21 (40,4)

вание в нормальной ткани по сравнению с опухолевой) при РМЖ. Однако следует отметить, что при РЯ для этого гена отмечено нехарактерное увеличение уровня метилирования в опухоли по сравнению с морфологически нормальной тканью яичника (табл. 2), что, по-видимому, связано с двойственным характером поведения этого гена в зависимости от окружения в клетке [14, 15].

Эти результаты позволяют предполагать опухоль-супрессорную функцию для генов *APAF1*, *DAPK1*, *VIM* и *BAX*, и двойственную – для *BCL2*, и их вовлеченность в патогенез РМЖ и РЯ. Следует подчеркнуть, что анализ метилирования 4 генов: *APAF1*, *DAPK1*, *VIM* и *BAX* на представительной выборке образцов РМЖ проводился впервые.

Используя критерий Манна–Уитни для независимых выборок, был проведен анализ изменения уровня метилирования исследованных генов в зависимости от клинично-морфологических параметров опухолей молочной железы (стадия, степень дифференцировки, размер опухоли, наличие или отсутствие лимфогенных метастазов).

Для гена *TP53* при РМЖ и генов *DAPK1*, *BCL2*, *VIM*, *APAF1*, *TP53* при РЯ статистически значимых корреляций найдено не было ни для одного из параметров.

Показано статистически значимое увеличение уровня метилирования генов *DAPK1*, *VIM*, *BAX*, *APAF1* при РМЖ и гена *BAX* при РЯ на более тяжёлых III–IV стадиях по сравнению с более ранними стадиями (I–II) (рис. 1, А, Б), а также статистически значимое снижение уровня метилирования для гена *BCL2* на более тяжёлых III–IV стадиях (рис. 1, А) по сравнению с более ранними стадиями (I–II).

Также статистически значимо высокий уровень метилирования генов *DAPK1*, *APAF1*, *VIM*, *BAX* был свя-

зан с увеличением размера опухоли (T_1/T_2 против T_3/T_4) при РМЖ (рис. 2, А), а для генов *VIM* и *BAX* – с наличием лимфогенных метастазов (N_0M_0 против $N_{1-2}M_0$) (рис. 2, Б). При РЯ статистически значимо высокий уровень метилирования был выявлен в опухолях, имеющих большой размер, а также лимфогенное метастазирование (рис. 2, В).

Обсуждение

Настоящая работа была направлена на изучение молекулярных механизмов канцерогенеза при РМЖ и РЯ человека с целью выявления закономерностей образования и прогрессии данных видов опухолей.

По результатам исследования, при РЯ было показано статистически значимое гиперметилирование генов *BCL2*, *DAPK1* и *BAX* в образцах опухолей, по сравнению с парной гистологически нормальной тканью яичников. При РМЖ наблюдали гиперметилирование 4 про-апоптотных генов (*DAPK1*, *APAF1*, *VIM*, *BAX*) и, напротив, гипометилирование *BCL2*. Ранее имелись сообщения о гиперметилировании гена *DAPK1* в некоторых видах опухолей, но данные о роли метилирования этого гена в прогрессии РМЖ представлены единичными сообщениями [16, 17]. Результаты, полученные в нашей работе по уровню гиперметилирования *DAPK1* в опухолях РМЖ, согласуются с данными литературы [16].

Следует отметить, что результаты нашего исследования существенно раскрывают вопрос о роли метилирования промоторных CpG-островков в регуляции генов *VIM* и *BAX* в опухолях РМЖ и РЯ, который ранее подробно не изучался.

Кроме того, нами было показано, что метилирование промоторных CpG-островков белок-кодирующих

Таблица 2

Изменение уровня метилирования 6 белоккодирующих генов в парных образцах опухолей РМЖ и РЯ в сравнении с условной нормой (Me (Q1; Q3))

Ген		Уровень метилирования, %	
		РМЖ (n = 70)	РЯ (n = 52)
DAPK1	Норма	2,85 (1,55; 8,78)	1,55 (0,35; 3,37)
	Опухоль	15,85** (3,22; 49,93)	4,41* (0,92; 23,61)
VIM	Норма	5,67 (2,26; 14,15)	0,59 (0,41; 0,75)
	Опухоль	14,78** (4,86; 33,94)	0,13 (0,06; 1,04)
BAX	Норма	5,54 (1,13; 14,53)	0,99 (0,08; 3,28)
	Опухоль	15,20** (5,25; 35,85)	4,25* (0,66; 23,35)
APAF1	Норма	1,78 (0,51; 5,14)	0,08 (0,02; 0,21)
	Опухоль	4,35* (0,94; 25,06)	0,42 (0,32; 0,59)
BCL2	Норма	18,42 (2,67; 41,10)	10,23 (8,02; 25,40)
	Опухоль	5,59** (0,72; 11,58)	40,09* (16,63; 57,60)
TP53	Норма	0,28 (0,17; 1,63)	0,57 (0,08; 0,70)
	Опухоль	0,28 (0,18; 1,22)	0,52 (0,08; 0,75)

Примечание: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,001$ по сравнению с нормой.

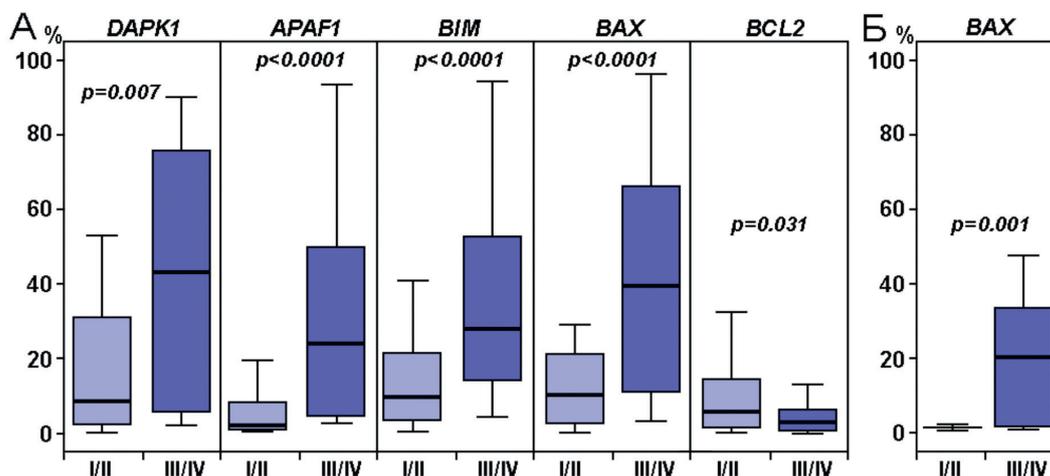


Рис. 1. Связь уровня метилирования 5 белок-кодирующих генов со стадией онкологического процесса при РМЖ (А) и РЯ (Б). Обозначения: верхняя и нижняя границы прямоугольников на диаграммах соответствуют первому и третьему квартилям (внутри прямоугольника попадает 50% наблюдений); линия внутри прямоугольника соответствует медиане; линиями сверху и снизу от прямоугольников отмечены максимальное и минимальное значения. Ось Y – уровень метилирования, %; ось X – анализируемые группы.

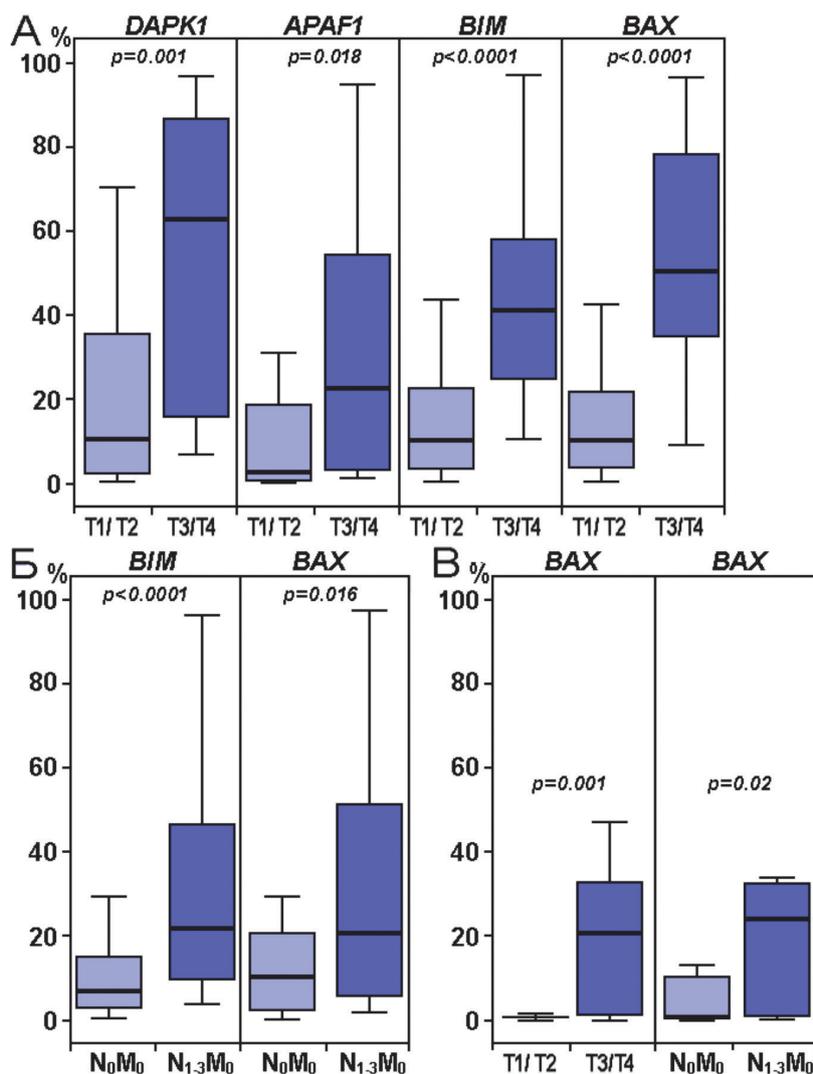


Рис. 2. Связь уровня метилирования генов *DAPK1*, *APAF1*, *BIM*, *BAX* с размером опухоли (А) и лимфогенным метастазированием при раке молочной железы (Б) и раке яичников (В). Обозначения – как на рис. 1.

генов *DAPK1*, *VIM*, *VAX*, *APAF1*, *BCL2* коррелирует с клинической стадией, генов *DAPK1*, *VIM*, *VAX*, *APAF1* – с размером опухоли, генов *VIM*, *VAX*, с лимфогенным метастазированием при РМЖ. А метилирование гена *VAX* значимо коррелирует с клинической стадией, размером опухоли и с метастазированием при РЯ.

По итогам настоящего исследования можно отметить, что полученные нами данные выявили патогенетическую роль метилирования исследованных генов в возникновении и прогрессии РЯ и РМЖ, а также позволяют говорить о влиянии генов системы апоптоза на патофизиологический профиль РЯ и РМЖ.

Заключение

Полученные результаты способствуют расширению представлений о роли эпигенетической регуляции изученных белок-кодирующих генов, входящих в систему апоптоза, в онкогенезе. В частности, выявляют важную роль гиперметилирования этих генов в развитии и прогрессии РМЖ и РЯ, включая лимфогенное метастазирование. Кроме того, на основе полученных результатов можно создать новую потенциальную систему биомаркеров диагностики и прогноза исследованных видов рака. В дальнейшем, объединив результаты этого и других исследований, можно будет попытаться разработать более эффективные, по сравнению с имеющимися в настоящее время, лекарственные средства, основанные на анализе генетической и эпигенетической картины каждой пациентки.

Список литературы

1. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* 2021; 71(3): 209-249. DOI: 10.3322/caac.21660
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. *Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность)* М.: ФГБУ МНИОИ им. П.А.Герцена филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2020, 252 с.
3. Michalkova R., Mirossay L., Gazdova M., Kello M., Mojzis J. Molecular Mechanisms of Antiproliferative Effects of Natural Chalcones. *Cancers (Basel)*. 2021; 13(11): 2730. DOI: 10.3390/cancers13112730
4. Pfeffer C.M., Singh A.T.K. Apoptosis: A Target for Anticancer Therapy. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 19(2): 448. DOI: 10.3390/ijms19020448
5. Edlich F. BCL-2 proteins and apoptosis: Recent insights and unknowns. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2018; 500(1): 26-34. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.06.190
6. Buocikova V., Rios-Mondragon I., Pilalis E., Chatziioannou A., Miklikova S., Mego M., Pajuste K., Rucins M., Yamani N.E., Longhin E.M., Sobolev A., Freixanet M., Puentes V., Plotniece A., Dusinska M., Cimpan M.R., Gabelova A., Smolkova B. Epigenetics in Breast Cancer Therapy-New Strategies and Future Nanomedicine Perspectives. *Cancers (Basel)*. 2020; 12(12): 3622. DOI: 10.3390/cancers12123622
7. Papakonstantinou E., Androutopoulos G., Logotheti S., Adonakis G., Maroulis I., Tzelepi V. DNA Methylation in Epithelial Ovarian Cancer: Current Data and Future Perspectives. *Curr. Mol. Pharmacol.* 2020. DOI: 10.2174/1874467213666200810141858
8. Zuberi M., Dholariya S., Khan I., Mir R., Guru S., Bhat M., Sumi M., Saxena A. Epigenetic Silencing of *DAPK1* and *p16 INK4a* Genes by CpG Island Hypermethylation in Epithelial Ovarian Cancer Patients. *Indian J. Clin. Biochem.* 2021; 36(2): 200-207. DOI: 10.1007/s12291-020-00888-4

9. Qi L., Zhou B., Chen J., Hu W., Bai R., Ye C., Weng X., Zheng S. Significant prognostic values of differentially expressed-aberrantly methylated hub genes in breast cancer. *J. Cancer*. 2019; 10(26): 6618-6634. DOI: 10.7150/jca.33433
10. *WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs*. Eds.: R.J. Kurman, M.L. Carcangiu, C.S. Herrington, R.H. Young. WHO, 2014.
11. *TNM Classification of Malignant Tumours*. Eds.: J.D. Brierley, M.K. Gospodarowicz, C. Wittekind. Chichester, West Sussex, UK; Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2017.
12. Бурденный А.М., Филиппова Е.А., Иванова Н.А., Лукина С.С., Пронина И.В., Логинов В.И., Фридман М.В., Казубская Т.П., Уткин Д.О., Брага Э.А., Кушлинский Н.Е. Гиперметилирование генов новых длинных некодирующих РНК в опухолях яичников и метастазах: двойственный эффект. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2021; 171(3): 353-358. DOI: 10.47056/0365-9615-2021-171-3-353-358
13. Брага Э.А., Бурденный А.М., Пронина И.В., Филиппова Е.А., Казубская Т.П., Фридман М.В., Ходырев Д.С., Карпухин А.В., Логинов В.И., Кушлинский Н.Е. Система маркеров на основе метилирования группы проапоптотических генов в комбинации с микроРНК в диагностике рака молочной железы. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2019; 168(9): 338-342.
14. Dagher E., Abadie J., Loussouarn D., Fanuel D., Campone M., Nguyen F. Bcl-2 expression and prognostic significance in feline invasive mammary carcinomas: a retrospective observational study. *BMC Vet. Res.* 2019; 15(1): 25. DOI: 10.1186/s12917-018-1772-x
15. Nguyen C.V., Nguyen Q.T., Vu H.T.N., Phung H.T., Pham K.H., Le R.D. Combined p53 and Bcl2 Immunophenotypes in Prognosis of Vietnamese Invasive Breast Carcinoma: A Single Institutional Retrospective Analysis. *Technol. Cancer Res. Treat.* 2020; 19: 1533033820983081. DOI: 10.1177/1533033820983081
16. Yadav P., Masroor M., Nandi K., Kaza R.C.M., Jain S.K., Khurana N., Saxena A. Promoter Methylation of *BRCA1*, *DAPK1* and *RASSF1A* is Associated with Increased Mortality among Indian Women with Breast Cancer. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2018; 19(2): 443-448. DOI: 10.22034/APJCP.2018.19.2.443
17. Li Y., Melnikov A.A., Levenson V., Guerra E., Simeone P., Alberti S., Deng Y. A seven-gene CpG-island methylation panel predicts breast cancer progression. *BMC Cancer*. 2015; 15: 417. DOI: 10.1186/s12885-015-1412-9

References

1. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* 2021; 71(3): 209-249. DOI: 10.3322/caac.21660
2. Kaprin A.D., Starinsky V.V., Shakhzadova A.O. [Malignant neoplasms in Russia in 2019 (morbidity and mortality)]. М.: FSBI Moscow in Russian P.A. Herzen – Branch of the “National Medical Research Center of Radiology”, 2020, 252 p. (in Russian)
3. Michalkova R., Mirossay L., Gazdova M., Kello M., Mojzis J. Molecular Mechanisms of Antiproliferative Effects of Natural Chalcones. *Cancers (Basel)*. 2021; 13(11): 2730. DOI: 10.3390/cancers13112730
4. Pfeffer C.M., Singh A.T.K. Apoptosis: A Target for Anticancer Therapy. *Int. J. Mol. Sci.* 2018; 19(2): 448. DOI: 10.3390/ijms19020448
5. Edlich F. BCL-2 proteins and apoptosis: Recent insights and unknowns. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2018; 500(1): 26-34. DOI: 10.1016/j.bbrc.2017.06.190
6. Buocikova V., Rios-Mondragon I., Pilalis E., Chatziioannou A., Miklikova S., Mego M., Pajuste K., Rucins M., Yamani N.E., Longhin E.M., Sobolev A., Freixanet M., Puentes V., Plotniece A., Dusinska M., Cimpan M.R., Gabelova A., Smolkova B. Epigenetics in Breast Cancer Therapy-New Strategies and Future Nanomedicine Perspectives. *Cancers (Basel)*. 2020; 12(12): 3622. DOI: 10.3390/cancers12123622
7. Papakonstantinou E., Androutopoulos G., Logotheti S., Adonakis G., Maroulis I., Tzelepi V. DNA Methylation in Epithelial Ovarian Cancer: Current Data and Future Perspectives. *Curr. Mol. Pharmacol.* 2020. DOI: 10.2174/1874467213666200810141858
8. Zuberi M., Dholariya S., Khan I., Mir R., Guru S., Bhat M., Sumi M., Saxena A. Epigenetic Silencing of *DAPK1* and *p16 INK4a* Genes by CpG Island Hypermethylation in Epithelial Ovarian Cancer Pa-

- tients. *Indian J. Clin. Biochem.* 2021; 36(2): 200-207. DOI: 10.1007/s12291-020-00888-4
9. Qi L., Zhou B., Chen J., Hu W., Bai R., Ye C., Weng X., Zheng S. Significant prognostic values of differentially expressed-aberrantly methylated hub genes in breast cancer. *J. Cancer.* 2019; 10(26): 6618-6634. DOI: 10.7150/jca.33433
 10. *WHO Classification of Tumours of Female Reproductive Organs.* Eds.: R.J. Kurman, M.L. Carcangiu, C.S. Herrington, R.H. Young. WHO, 2014.
 11. *TNM Classification of Malignant Tumours.* Eds.: J.D. Brierley, M.K. Gospodarowicz, C. Wittekind. Chichester, West Sussex, UK; Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2017.
 12. Burdenny A.M., Filippova E.A., Ivanova N.A., Lukina S.S., Pronina I.V., Loginov V.I., Fridman M.V., Kazubskaya T.P., Utkin D.O., Braga E.A., Kushlinskii N.E. [Hypermethylation of new long non-coding RNA genes in ovarian tumors and metastases: a dual effect]. *Byulleten' ehksperimental'noi biologii i meditsiny [Bulletin of Experimental Biology and Medicine]*. 171(3): 353-358. DOI: 10.47056/0365-9615-2021-171-3-353-358 (in Russian)
 13. Braga E.A., Burdenny A.M., Pronina I.V., Filippova E.A., Loginov V.I., Karpukhin A.V., Kazubskaya T.P., Kushlinskii N.E., Fridman M.V., Khodyrev D.S. System of markers based on the methylation of a group of proapoptotic genes in combination with microRNA in the diagnosis of breast cancer. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* 2020; 168(3): 366-370. DOI: 10.1007/s10517-020-04710-2
 14. Dagher E., Abadie J., Loussouarn D., Fanuel D., Campone M., Nguyen F. Bcl-2 expression and prognostic significance in feline invasive mammary carcinomas: a retrospective observational study. *BMC Vet. Res.* 2019; 15(1): 25. DOI: 10.1186/s12917-018-1772-x
 15. Nguyen C.V., Nguyen Q.T., Vu H.T.N., Phung H.T., Pham K.H., Le R.D. Combined p53 and Bcl2 Immunophenotypes in Prognosis of Vietnamese Invasive Breast Carcinoma: A Single Institutional Retrospective Analysis. *Technol. Cancer Res. Treat.* 2020; 19: 1533033820983081. DOI: 10.1177/1533033820983081
 16. Yadav P., Masroor M., Nandi K., Kaza R.C.M., Jain S.K., Khurana N., Saxena A. Promoter Methylation of BRCA1, DAPK1 and RASSF1A is Associated with Increased Mortality among Indian Women with Breast Cancer. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2018; 19(2): 443-448. DOI: 10.22034/APJCP.2018.19.2.443
 17. Li Y., Melnikov A.A., Levenson V., Guerra E., Simeone P., Alberti S., Deng Y. A seven-gene CpG-island methylation panel predicts breast cancer progression. *BMC Cancer.* 2015; 15: 417. DOI: 10.1186/s12885-015-1412-9

Сведения об авторах:

Филиппова Елена Александровна — кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории патогеномики и транскриптомики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; <https://orcid.org/0000-0001-7172-0433>

Бурдённий Алексей Михайлович — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патогеномики и транскриптомики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; <https://orcid.org/0000-0002-9398-8075>

Лукина Светлана Сергеевна — старший лаборант лаборатории патогеномики и транскриптомики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; <https://orcid.org/0000-0001-6246-2444>

Пронина Ирина Валерьевна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патогеномики и транскриптомики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; <https://orcid.org/0000-0002-0423-7801>

Казубская Татьяна Павловна — доктор медицинских наук, врач-онкогенетик, старший научный сотрудник лаборатории клинической онкогенетики Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0001-5856-0017>

Брага Элеонора Александровна — доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник, заведующая лабораторией патогеномики и транскриптомики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; <https://orcid.org/0000-0001-5188-4094>

Логонов Виталий Игоревич — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патогеномики и транскриптомики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; <http://orcid.org/0000-0003-2668-8096>