

МАРКЕРЫ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ СЕРОЗНОГО РАКА ЯИЧНИКОВ

П.М. Абрамов, С.В. Винокурова, Д.С. Елкин

НИИ канцерогенеза, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

Цель исследования. Провести систематический анализ литературы на тему метилирования ДНК при раке яичников (РЯ). Особое внимание уделить работам, посвященным метилированию ДНК в качестве диагностического маркера РЯ.

Материалы и методы. В обзор литературы были включены англоязычные публикации, доступные в базе данных PubMed за последние 20 лет.

Результаты. Анализ данных литературы показал, что дифференциальное метилирование ДНК наблюдается в клинических образцах больных РЯ. Сегодня изучение метилирования ДНК является одним из наиболее перспективных направлений в разработке ранней диагностики РЯ. Дифференциальное метилирование ДНК не только может детектироваться в опухолевой ткани, но и выявляется с использованием неинвазивных методов. Несмотря на успехи в этой области, данные литературы носят спорадический характер. Множество сайтов метилирования генов описаны в единичных публикациях. Но есть и хорошо изученные, часто встречающиеся гены, которые описаны во многих работах: RASSF1, BRCA1, MGMT, OPCML, а также гены группы HOX.

Заключение. Изучение aberrантного метилирования ДНК в опухолевой ткани и биологических жидкостях позволит разработать подход для ранней диагностики РЯ. Более того, aberrантное метилирование ДНК имеет потенциал использования в качестве прогностического маркера течения заболевания, а также маркера выбора терапии.

Ключевые слова: метилирование ДНК, рак яичника, неинвазивная диагностика.

DNA METHYLATION MARKERS FOR DIAGNOSIS OF SEROUS OVARIAN CANCER

P.M. Abramov, S.V. Vinokurova, D.S. Elkin

Scientific Research Institute of Carcinogenesis, Federal State Budgetary Institution «N.N.Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow

Objective of the study is to conduct systematic analysis of the literature on DNA methylation in ovarian cancer (OC), special emphasis should be placed on DNA methylation as a diagnostic marker of ovarian cancer.

Materials and Methods. The review comprises English language publications available in PubMed database in the previous 14 years.

Results. Analysis of literature data showed that differential DNA methylation is observed in clinical samples of patients with ovarian cancer. To date, the study of DNA methylation is one the most promising focus area for the development of early diagnosis of ovarian cancer. Differential DNA methylation may be detected not only in tumor tissue but it can be revealed using non-invasive techniques. While considerable progress has been made in this field, literature data are sporadic. Majority of gene methylation sites are described in single publications. But there are well researched, common genes that are reported in many works: RASSF1, BRCA1, MGMT, OPCML, as well as HOXA gene family.

Conclusion. The study of aberrant DNA methylation in tumor tissue and biological fluids will allow to develop an approach for early diagnosis of ovarian cancer. Furthermore, aberrant DNA methylation has the potential to be used as a prognostic marker of disease progression and also as treatment selection marker.

Keywords: DNA methylation, ovarian cancer, non-invasive diagnostics.

Введение

Рак яичников (РЯ) — гетерогенная группа эпителиальных опухолей яичника, у большин-

ства больных он представлен серозной аденокарциномой. По данным Международного агентства по изучению рака (International

Agency for Research on Cancer, IARC), РЯ занимает 7-е место в структуре общей онкологической заболеваемости и 5-е место среди причин смерти от всех злокачественных опухолей у женщин [1]. Смертность в течение первого года после постановки диагноза составляет 22,7% [2]. Пятилетняя выживаемость больных на I стадии составляет 92%, на II стадии — 73%, на III стадии — 34%, на IV стадии — 18%; пятилетняя выживаемость для всех стадий равняется 45% [3]. Причинами такой высокой смертности являются низкая эффективность ранней диагностики и бессимптомное течение данного заболевания на ранних этапах развития.

Основным неинвазивным диагностическим маркером РЯ является СА-125. Уровни данного маркера повышаются в 80% случаев поздних стадий рака яичников, но при этом увеличение СА-125 при РЯ ранней стадии наблюдается только в 50% случаев [4]. Однако повышенные сывороточные уровни СА-125 также выявляются у пациентов с доброкачественными гинекологическими опухолями и при воспалительных заболеваниях у женщин, вовлекающих придатки. Кроме того, незначительное повышение уровня онкомаркера СА-125 наблюдается при некоторых физиологических состояниях у женщин, таких как менструация и первый триместр беременности.

Поиск молекулярно-генетических маркеров затруднен из-за сложной классификации РЯ. По степени злокачественности серозный РЯ разделяют на две группы, учитывая также морфологические, иммуногистохимические и молекулярные характеристики. Тип I включает низкоклеточные опухоли (около 25%), представленные серозными, эндометриоидными, светлоклеточными, муцинозными карциномами и злокачественными опухолями Бреннера, обладающими, как правило, низким злокачественным потенциалом. У опухолей I типа редко встречаются мутации *TP53*, но часто — соматические мутации генов *KRAS*, *BRAF*, *ERBB2*, *PTEN*, *CTNNB1*, *PIK3CA*, *ARID1A* и *PPP2R1A*. Опухоли типа II включают высокозлокачественные агрессивные низкодифференцированные серозные, эндометриоидные кар-

циномы, злокачественные смешанные мезодермальные опухоли (карциносаркомы) и недифференцированные карциномы с высокой частотой мутаций генов *TP53* (80%), *BRCA1/2* и отсутствием мутаций в гене *KRAS*. В опухолях данного типа ярко выражена генетическая нестабильность. Опухоли II типа составляют около 75% от общего количества РЯ и, соответственно, являются наиболее частой причиной смерти в группе больных со злокачественными опухолями яичников [5].

На основе анализа мутаций в вышеперечисленных генах ведутся попытки разработки маркеров для диагностики РЯ. Но большинство этих генов являются протяженными и содержат множество горячих точек мутаций. Детекция всех соматических мутаций в данных генах возможна только дорогостоящим методом секвенирования нового поколения; кроме того, далеко не все мутации, обнаруживаемые в генах, имеют четкое диагностическое значение и требуют дальнейшего изучения. Определение только распространенных значимых мутаций существующими тест-системами не дает полной картины мутационного профиля опухоли.

Еще одной сложностью в вопросе ранней диагностики РЯ является неоднозначность источника развития данной нозологии. Ранее предполагалось, что РЯ развивается из мезотелия самих яичников [6]. Однако в последнее время накапливается все больше молекулярно-генетических доказательств того, что источником наиболее распространенного низкодифференцированного серозного РЯ являются эпителиальные клетки фимбриального отдела фаллопиевой трубы [7], а источником эндометриоидного и светлоклеточного РЯ может быть малигнизированный эндометрий матки [8, 9]. Эти данные, с одной стороны, объясняют многообразие гистологических форм РЯ и гетерогенность их мутационных профилей; с другой стороны, позволяют предположить, что клетки из полости матки и фаллопиевых труб могут быть источником для поиска ранних маркеров для диагностики РЯ.

Исходя из вышеизложенного, можно сказать, что традиционные подходы к диагностике

РЯ не отвечают современным требованиям, предъявляемым к биомаркерам: чувствительность, специфичность, доступность и воспроизводимость. В настоящее время ведется поиск новых диагностических маркеров онкологических заболеваний различных локализаций на основе ДНК метилирования.

Метилирование ДНК — важный процесс регуляции экспрессии генов. В геноме клеток млекопитающих часть цитозинон в составе CpG-динуклеотидов содержат метильную группу в пятом положении кольца [10]. Около 70% CpG-динуклеотидов в геноме соматических клеток человека являются метилированными. Неметилированные CpG-динуклеотиды сгруппированы в специфических GC-богатых последовательностях длиной не менее 200 п.н., названных CpG-островками из-за высокого по сравнению с остальным геном содержания в них CpG-динуклеотидов. Регуляторные области (промоторы и первые экзоны) приблизительно 60% генов располагаются в CpG-островках. Установлено, что гиперметилирование промотора приводит к ингибированию транскрипции, тогда как метилирование в кодирующих участках гена не препятствует транскрипции. В процессе образования и развития опухоли происходят серьезные нарушения в характере метилирования ДНК. С одной стороны, наблюдается избирательное локальное гиперметилирование неметилированных в норме CpG-островков генов-супрессоров опухолей и некодирующих РНК, сопровождающееся инактивацией их транскрипции; с другой стороны, происходит общее снижение уровня метилирования ДНК, которое приводит к активации генов, метилированных в нормальных клетках данной ткани (повторяющихся элементов, транспозонов и эндогенных ретровирусов), и, как следствие, к нестабильности генома.

Использование метилирования ДНК в качестве биомаркеров нового поколения имеет ряд преимуществ. Во-первых, метилирование ДНК — биологически и химически устойчивая модификация, сохраняющаяся в свободно циркулирующей ДНК плазмы крови и других биологических жидкостях организма [11], что

является преимуществом перед нестабильными молекулами РНК и белков. Во-вторых, для детекции aberrантного гиперметилирования достаточно проанализировать небольшие CpG-содержащие участки ДНК или определенный CpG динуклеотид, а не прочитывать последовательность всего гена в поисках мутаций. В-третьих, использование метилирования генов, вовлеченных в процесс инициации развития опухоли, в качестве маркеров может решить проблему ранней диагностики опухолевого процесса.

Начиная с 1999 г., когда была показана возможность детектировать изменения метилирования ДНК в промоторах генов *p16*, *DAP* киназы и *MGMT* в свободно циркулирующей крови у больных немелкоклеточным раком легкого [12], продолжается поиск такого типа маркеров. Сегодня тест на метилирование гена *SEPT9* в плазме крови в качестве диагностического биомаркера для больных колоректальным раком одобрен Управлением продуктов питания и лекарственных средств США (Food and Drug Administration, FDA). А статус метилирования промотора *MGMT* используется в качестве прогностического маркера, а также биомаркера для выбора послеоперационной терапии пациентов с глиомой [13].

Метилирование генов при РЯ

Аберрантное метилирование ДНК наблюдается уже на ранних стадиях РЯ и может быть обнаружено в свободно циркулирующей ДНК крови и, следовательно, использовано для разработки неинвазивного диагностического теста для РЯ [14]. Выявление специфических эпигенетических изменений при РЯ может быть использовано также для молекулярной классификации данного заболевания [15].

Однако вопрос выбора маркеров метилирования для РЯ стоит остро. В литературе описано огромное количество генов, aberrантно метилированных при РЯ, но большинство из них упоминаются только в единичных публикациях. Кроме того, множество исследований демонстрируют результаты на малой выборке пациентов, а выбор метода исследования зачастую падает на низкочувствительную

метилспецифичную ПЦР (полимеразная цепная реакция, MSP, Methylation-specific PCR). Наиболее изученными и хорошо описанными являются гены *RASSF1*, *BRCA1*, *MGMT*, *OPCML* и гены группы *HOX*. Далее в обзоре будут рассмотрены данные литературы о метилировании этих генов при РЯ в опухолевом материале, а также о возможности использования метилирования этих генов для неинвазивной диагностики в циркулирующей ДНК плазмы крови больных РЯ. Обобщенные данные приведены в таблице, в которую включены публикации, содержащие описания часто встречающихся генов, метилированных при РЯ (*RASSF1*, *BRCA1*, *MGMT*, *OPCML* и *HOXA*), и имеющие в выборке не менее 50 случаев серозного РЯ либо не менее 50 случаев РЯ различных гистотипов.

RASSF1. В локусе *RASSF1* (*Ras association domain-containing protein 1*), находящемся на хромосоме 3p21.31, считывается девять транскриптов. Главными транскриптами гена являются *RASSF1A* и *RASSF1C* [16], наиболее изучена изоформа *RASSF1A*. Белок *RASSF1A* —

онкосупрессор, обладающий многочисленными функциями в клетке. *RASSF1A* регулирует клеточный цикл, вызывая задержку клеточного цикла в фазе G1/S-перехода, что влияет на содержание циклина D1 и фосфорилирование белка pRb. Кроме того, продукт гена *RASSF1A*, связываясь с GTP-связанной формой белка RAS благодаря наличию RAS-связывающего домена, вызывает индукцию апоптоза [17]. Инактивация *RASSF1A* вследствие специфических точечных мутаций или эпигенетического подавления его экспрессии связана с развитием многих видов опухолей человека.

Согласно данным метаанализа, объединившего результаты 13 статей, включающих информацию о 763 больных РЯ и 438 контролей (смежные ткани от больных РЯ, ткани яичников от пациентов с доброкачественными заболеваниями яичников и нормальные ткани яичников от пациентов без рака или здоровых людей) с использованием в диагностике различных методов, основанных на ПЦР-анализе метилирования ДНК, частота метилирования

Список публикаций с часто встречающимися описаниями маркеров метилирования

Исследование	Тип и количество образцов	Исследуемые гены	Методы	% метилирования
Метилирование ДНК в ткани				
[20]	Серозный РЯ — 106	<i>RASSF1A</i>	MethyLight PCR (ПЦР со специфическим TaqMan зондом)	0 — 50
[19]	Серозный РЯ — 61. Прилегающая нормальная ткань яичников — 58. Плазма доноров — 51	<i>RASSF1A</i>	qMSP	0 — 41,0
			MS-HRMA	0 — 45,9
[58]	Серозный РЯ — 92	<i>PALB2</i> , <i>RASSF1A</i>	MS-HRMA	<i>RASSF1A</i> — 24; <i>PALB2</i> — 0
[49]	Серозный РЯ — 80. Нормальная ткань яичников — 12	<i>BRCA1</i> , <i>CDH1</i> , <i>DLEC1a</i> , <i>EN1</i> , <i>GATA4</i> , <i>GATA5</i> , <i>HOXA9</i> , <i>HSULF1</i> , <i>RASSF1A</i> , <i>SFN</i>	Модифицированный MSP	<i>RASSF1A</i> : H — 20, O — 50; <i>BRCA1</i> : H — 10, O — 20; <i>HOXA9</i> : H — 10, O — 90; <i>EN1</i> : H — 10, O — 80
[59]	Различные гистотипы РЯ — 75	<i>CDKN2B</i> , <i>CDH13</i> , <i>RASSF1</i> , <i>ESR1</i> , <i>MLH1</i> , <i>TIMP3</i> , <i>APC</i> , <i>BRCA1</i> , другие гены	MLPA	<i>CDKN2B</i> — 24; <i>CDH13</i> — 16; <i>RASSF1</i> — 12; <i>ESR</i> — 8; <i>MLH1</i> — 8; <i>TIMP3</i> — 5,3; <i>APC</i> — 5,3; <i>BRCA1</i> — 5,3
			MSP	<i>RASSF1</i> — 12

Исследование	Тип и количество образцов	Исследуемые гены	Методы	% метилирования
[25]	Различные опухоли РЯ — 106	<i>OPCML, DCR1, RASSF1A, HIC1, BRCA1, MINT25</i> , другие гены с метилированием <10%	MSP	<i>OPCML</i> — 33,3; <i>DCR1</i> — 30,7; <i>RASSF1A</i> — 26,4; <i>HIC1</i> — 17,3; <i>BRCA1</i> — 12,3; <i>MINT25</i> — 12,0
[60]	Различные опухоли РЯ — 59. Нормальная ткань яичников — 10	<i>BRCA1, RASSF1A, ER</i>	MSP	<i>BRCA1</i> — 18,6; <i>RASSF1A</i> — 67,8; <i>ER</i> — 25,4
[61]	Различные опухоли РЯ — 102. Нормальная ткань яичников — 100	<i>BRCA1, hMLH1, MGMT</i>	MSP	<i>BRCA1</i> : Н — 51, О — 45; <i>hMLH1</i> : Н — 34, О — 22; <i>MGMT</i> : Н — 14, О — 32
[24]	Серозный РЯ — 69	<i>BRCA1</i>	MSP	<i>BRCA1</i> — 89,9
[23]	Серозный РЯ — 75. Несерозный РЯ — 37	<i>BRCA1</i>	Пиросеквенирование	Серозный РЯ — 25; несерозный РЯ — 8
[62]	Серозный РЯ — 52. Недифференцированная опухоль — 17. Нормальная ткань яичников — 15	<i>MGMT</i>	MSP	Серозный РЯ — 21,2; недифференцированная опухоль — 41,2; нормальная ткань яичников — 0
[43]	Серозный РЯ — 57. Муцинозный РЯ — 19. Эндометриоидный РЯ — 20. Доброкачественные опухоли — 85. Нормальная ткань яичников — 30	<i>OPCML</i>	qMSP	Серозный РЯ — 73,4; муцинозный РЯ — 78,9; эндометриоидный РЯ — 85,0; доброкачественная опухоль — 32,9; нормальная ткань яичников — 0
[48]	Серозный РЯ — 41. Муцинозный РЯ — 33. Эндометриоидный РЯ — 14	<i>HOXA10, HOXA11</i>	MethyLight PCR	<i>HOXA10</i> : серозный РЯ — 80; муцинозный РЯ — 54; эндометриоидный РЯ — 78,6. <i>HOXA11</i> : серозный РЯ — 78; муцинозный РЯ — 63; эндометриоидный РЯ — 85,7
Метилирование ДНК в плазме крови				
[21]	Серозный РЯ — 82. Муцинозный РЯ — 70. Светлоклеточный РЯ — 6. Эндометриоидный РЯ — 2. Плазма здоровых доноров — 160	<i>RASSF1A</i>	MSP	<i>RASSF1A</i> : Н — 0, О — 85
[19]	Плазма пациентов с РЯ — 59. Плазма здоровых доноров — 51	<i>RASSF1A</i>	qMSP	<i>RASSF1A</i> : Н — 0, О — 25,4

Примечания. MSP — метилспецифичный ПЦР, Methylation-specific PCR; MS-HRMA — метилчувствительный анализ кривых плавлений с высоким разрешением, Methylation-Sensitive High Resolution Melting Analysis; MLPA — мультиплексная амплификация лигированных зондов, Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification; qMSP — количественный метилспецифичный ПЦР, Methylation-specific PCR; Н — образцы с нормальной тканью яичников; О — образцы с опухолевой тканью яичников.

промотора *RASSF1A* варьирует от 30 до 58% (медиана 48%) в группе с РЯ и от 0 до 21% (медиана 0) в контрольной группе. Частота метилирования в группе больных РЯ значительно выше, чем в контрольной группе, что

говорит о связи метилирования промотора *RASSF1A* и развития РЯ [18].

В некоторых исследованиях показана принципиальная возможность использования метилирования *RASSF1* для неинвазивной

диагностики в качестве диагностического и прогностического маркера РЯ. В исследовании Giannopoulou и соавт. при использовании метода метилчувствительного анализа кривых плавлений с высоким разрешением (Methylation-Sensitive High Resolution Melting Analysis, MS-HRMA) частота метилирования *RASSF1* у больных серозным РЯ составляла 45,9% (28 из 61). При этом метилирование наблюдалось также в 21 из 58 (36%) прилегающих к опухолям нормальных тканей яичников. Увеличение метилирования *RASSF1* в прилегающих к опухоли нормальных тканях может объясняться моделью «генов-предшественников опухолей», работа которых эпигенетически нарушается на самых ранних стадиях онкогенеза, оказывая влияние на ход дифференцировки клеток в ходе опухолевой эволюции. С другой стороны, нельзя исключить возможность контаминации нормальной ткани опухолевыми клетками. Метилированный *RASSF1* удалось обнаружить в плазме 15 из 59 (25,4%) пациентов с гиперметилированным *RASSF1* в опухолевой ткани [19]. В исследовании Bondurant и соавт. при использовании метода MSP метилирование *RASSF1* было выявлено у 54 из 106 (51%) больных серозным РЯ без уточнения подтипа опухоли. При этом у 20 (100%) пациентов с гиперметилированным *RASSF1* в опухолевой ткани метилированный *RASSF1* определялся в свободно циркулирующей ДНК крови, взятой до операции. Также в работе был проведен сравнительный анализ метилирования *RASSF1* в ткани серозной карциномы яичника III/IV стадии и сыворотке у пациентов, проходивших первичное лечение. У всех девяти пациентов было обнаружено гиперметилирование *RASSF1* в опухолевой ткани и сыворотке. У четверых пациентов из пяти с ремиссией после завершения терапии наблюдалось снижение уровня метилирования *RASSF1* в сыворотке. У троих пациентов из четырех с персистирующей или рецидивирующей формой заболевания уровень метилирования *RASSF1*, наоборот, возрастал [20].

Успешно детектировать метилирование *RASSF1* в сыворотке крови также удалось

Rezki и соавт. на выборке пациентов с различными гистотипами РЯ. Метилирование *RASSF1* в крови было обнаружено у 136 из 160 (85%) пациентов [21]. Результаты этих исследований свидетельствуют в пользу того, что метилирование *RASSF1* ассоциировано с РЯ и может служить диагностическим маркером. Кроме того, изменение уровня метилирования в свободно циркулирующей ДНК в плазме больных позволяет предположить, что метилирование *RASSF1* можно использовать для мониторинга больных с РЯ в ходе лечения.

BRCA1. *BRCA1* (breast cancer 1) является хорошо известным онкосупрессором, герминальные мутации которого наблюдаются у пациентов с семейным раком молочной железы и яичников. Продукт гена *BRCA1* — многофункциональный белок. Он участвует в репарации двухцепочечных разрывов ДНК, активации транскрипции, контроле клеточного цикла и апоптоза, ремоделировании хроматина [22].

В исследовании Zhu и соавт., включавшем 112 первичных больных РЯ (75 — с серозным РЯ, 37 — с несерозным РЯ), методом пиро-секвенирования было показано метилирование промотора гена *BRCA1* у 22 из 112 (19,6%) пациентов [23]. При этом метилирование в серозном РЯ наблюдалось чаще, чем в несерозном: у 19 из 75 (25%) и 3 из 37 (8%) пациентов, соответственно. В другом исследовании Teodoridis и соавт. с помощью метода MSP показали, что *BRCA1* метилирован у 13 из 106 (12,3%) больных РЯ III/IV стадий. Pradjatmo и соавт. в 2014 г. показали, что в их исследовании доля больных с метилированным геном *BRCA1* составляла 89,9% (62 из 69), в то время как по литературным данным частота метилирования обычно не превышает 20% [25]. Основными причинами разброса данных являются выбор различных локусов для анализа метилирования, разнообразие методов тестирования уровня метилирования и разная величина порога метилирования, использованная для признания наличия гиперметилирования, гетерогенность исследуемого материала по соотношению опухолевых и нормальных клеток и др.

Показано, что метилирование *BRCA1* может быть ассоциировано с лучшим ответом на химиотерапию ДНК-повреждающими агентами ($p = 0,013$) [25]. Известно, что опухоли яичников-носителей герминальных мутаций *BRCA1* отличаются большей чувствительностью к химиотерапии ДНК-повреждающими агентами (препараты платины) и к ингибиторам PARP [26, 27]. В опытах *in vitro* было показано, что клеточные линии карцином молочной железы и яичников с соматическими мутациями или гиперметилированием промотора *BRCA1* обладают повышенной чувствительностью к препаратам платины и ингибиторам PARP вследствие нарушения способности формировать репарационные комплексы, остановки клеточного цикла и запуска апоптоза [28]. Однако для спорадических опухолей яичников существуют противоречивые данные о возможности использования соматических мутаций или гиперметилирования промотора *BRCA1* для предсказания чувствительности к препаратам платины и ингибиторам PARP. В ряде случаев исследователям не удалось обнаружить преимуществ терапии ДНК-повреждающими препаратами для пациентов с гиперметилированием промотора *BRCA1* [29, 30]. К сожалению, в работе не представлены данные по метилированию *BRCA1* в нормальном эпителии яичника, также описание экспериментальной части не дает четкого представления о том, в какой области гена или его промотора велся анализ метилирования. Как уже говорилось выше, противоречивые данные связаны с унифицированными методическими подходами, в связи с чем вопрос требует дальнейшего изучения.

Недавно было показано, что наличие гиперметилированного аллеля *BRCA1* в клетках крови и других нормальных тканях больных раком молочной железы и яичников ассоциировано со специфической нуклеотидной заменой в промоторе *BRCA1* в этом аллеле [31]. В этом случае гиперметилирование промотора предопределено вариацией в последовательности нуклеотидов промотора, которая может передаваться по наследству, как и герминальные мутации в экзонах гена.

Очевидно, что анализ гиперметилирования в клетках крови наряду с герминальными мутациями позволит более полно выявлять пациентов, члены семей которых подвержены риску развития рака молочной железы и яичников.

MGMT. Ген *MGMT* кодирует один из ферментов системы ДНК-репарации — O6-метилгуанин-ДНК-метилтрансферазу. *MGMT* удаляет метильные и хлорэтильные группы из O6-позиции гуанина. Если фермент неактивен, то клетка погибает путем апоптоза или аутофагии, так как метилгуанин провоцирует неправильное спаривание оснований в процессе репликации ДНК. Показано, что уровень экспрессии этого фермента предопределяет эффективность лечения пациента с помощью химиотерапии алкилирующими агентами [32].

Известно, что потеря экспрессии *MGMT* происходит при многих типах опухолей, включая глиому, лимфому, рак молочной железы и предстательной железы, а также ретинобластому [13]. Показано, что потеря экспрессии часто связана с метилированием промотора данного гена [33]. Поскольку *MGMT* защищает от мутагенных аддуктов ДНК, вполне вероятно, что потеря экспрессии гена в нормальных тканях указывает на вероятные предопухольные изменения.

Метаанализ, проведенный Chen и соавт. с целью оценки связи между статусом метилирования промотора *MGMT* и риском развития рака молочной железы и гинекологических заболеваний у женщин, показал, что доля гиперметилирования промотора *MGMT* варьировала от 3 до 70,1% (медиана — 24,8%) в опухолевых тканях и от 0 до 36,9% (медиана — 0,3%) в контрольной группе, соответственно. Авторы делают вывод о том, что гиперметилирование промотора *MGMT* связано с повышенным риском развития рака молочной железы и гинекологических опухолей ($p < 0,05$) [34].

В более ранних работах по изучению метилирования *MGMT* не всегда удавалось найти корреляцию между наличием гиперметилирования промотора и уровнем мРНК гена или белка. По-видимому, это было связано с тем,

что CpG-островок гена *MGMT* содержит 97 CpG-динуклеотидов, которые неметилированы в нормальных тканях и в различной степени метилированы у одного и того же пациента в опухоли. В связи с этим в последнее время для *MGMT* выполнено несколько основательных исследований статуса метилирования промотора и первого экзона на больших выборках опухолей с одновременным анализом уровня экспрессии мРНК, белка (в некоторых из них) и анализом применения химиотерапии, что позволило идентифицировать два района CpG-островка с высокой степенью метилирования и хорошей корреляцией с экспрессией гена [35, 36]. Гиперметилированный статус именно этих районов уже используется в качестве предсказательного маркера для лечения глиом алкилирующим агентом темозоломидом [37]. В связи с этим исследование гиперметилирования промотора *MGMT* при РЯ в качестве перспективного диагностического и прогностического маркера остается актуальной задачей.

OPCML. *OPCML* (Opioid-binding protein/cell adhesion molecule) представляет собой онкосупрессорный белок, подобный молекулам клеточной адгезии. *OPCML* негативно регулирует рецепторы тирозинкиназы, включая *EPHA2*, *FGFR1*, *FGFR3*, *HER2* и *HER4*. *OPCML* связывается с внеклеточными доменами рецепторов тирозинкиназ, способствуя их деградации через связанный с полиубиквитинированием протеосомный механизм, приводящий к ингибированию клеточного роста [38].

Показано, что *OPCML* эпигенетически инактивирован в большой группе следующих опухолей: РЯ [39], опухоли головного мозга [40], немелкоклеточный рак легкого, рак мочевого пузыря, холангиокарцинома, первичный рак носоглотки, пищевода, желудка, гепатоцеллюлярный рак, рак прямой кишки, молочной железы и шейки матки, а также лимфомы [41]. Метилирование и потеря экспрессии белка *OPCML* связаны с низкой выживаемостью пациентов [42]. Многочисленные данные указывают на то, что *OPCML* обладает широкой активностью подавления роста опухолей

и может быть использован в качестве потенциального маркера диагностики РЯ.

Zhou и соавт. в своей работе с применением метода количественного метилспецифического ПЦР (qMSP, Quantitative Methylation Specific PCR) на выборке из 30 нормальных яичников, 85 доброкачественных и 102 злокачественных опухолей яичников различных гистотипов показали, что 80 из 102 (78,4%) тканей рака яичника и 28 из 85 (32,9%) доброкачественных опухолей яичника имели метилированный промотор гена *OPCML*, в то время как ни в одном из 30 образцов нормальных яичников не наблюдалось метилирования промотора гена *OPCML*. Также отмечалось, что пациенты с метилированным *OPCML* имеют худший прогноз выживаемости, это подтверждает прогностическую ценность данного маркера. Кроме того, авторы говорят о том, что частота метилирования *OPCML* возрастает вместе со стадией РЯ ($p = 0,023$) [43]. Показано, что метилирование *OPCML* может быть обнаружено в ДНК, циркулирующей в крови пациентов с ранней стадией эпителиальных опухолей яичника в отличие от ДНК нормальных доноров [44]. Дальнейшее исследование в отношении возможности применения метилирования *OPCML* как диагностического маркера ранних стадий РЯ представляет интерес.

Гены семейства HOX. Гены *HOX* эволюционно высоко консервативны. Белки *HOX* — транскрипционные факторы, которые являются ключевыми регуляторами эмбрионального развития и продолжают экспрессироваться в течение всей постнатальной жизни во многих тканях. У человека 39 генов *HOX*, они расположены в четырех кластерах (A–D) на разных хромосомах (7p15, 17q21.2, 12q13 и 2q31, соответственно) [45]. Гены *HOX* активно участвуют в развитии мюллеровых протоков, не экспрессируются в нормальном эпителии яичника, но в то же время активно экспрессируются в различных гистотипах РЯ, обуславливая их мюллероподобную дифференцировку [46, 47].

В работе Fiegl и соавт. методом Methy Light ПЦР было показано, что ген *HOXA10* был метилирован в 33 из 41 (80%) случаях серозного

РЯ, а *HOXA11* — в 26 из 41 (78%) случая. На выборке из 92 пациентов с различным гистотипом РЯ, 72 из которых прошли терапию платиной, была показана прогностическая значимость метилирования гена *HOXA11*. Уровень метилирования *HOXA11* в опухолевой ткани тесно связан с возможностью возникновения остаточной опухоли после циторедуктивной хирургии, и метилирование *HOXA11* в опухоли независимо связано с плохим исходом заболевания [относительный риск смерти 3,4 (95% CI 1,2–9,9; $p = 0,03$)] [48].

В работе Montavon и соавт. с использованием модифицированного метода MSP на выборке из 79 больных серозным РЯ и 12 пациентов с условно здоровыми яичниками, которые перенесли операцию по поводу доброкачественных гинекологических состояний или рака эндометрия, было показано, что ген *HOXA9* метилирован в 75 из 79 (90%) и 1 из 12 (10%) случаев, соответственно. Также авторы подчеркивают диагностическую значимость метилирования *HOXA9* в сочетании с метилированием гена *EN1*. Комбинация статуса метилирования *HOXA9* и *EN1* могла бы отличить серозный РЯ от нормального эпителия яичников с чувствительностью 98,8% и специфичностью 91,7%, которая увеличивается до 100% чувствительности без потери специфичности, если включить в тест предоперационные уровни CA125 [49].

Метилирование ДНК в качестве маркера для скрининга РЯ

Поскольку у больных РЯ на ранних стадиях заболевания отсутствуют или проявляются только неспецифические симптомы, внедрение скрининговых программ может привести к увеличению частоты выявления ранних форм РЯ, улучшению эффективности проводимого лечения и, как следствие, улучшению выживаемости и снижению смертности от РЯ. Данные крупнейших рандомизированных исследований PLCO (Prostate, Lung, Colorectal, and Ovary) и UKCTOCS (United Kingdom Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening) показали, что скрининг РЯ теоретически возможен [50], но также удостоверяют в острой

необходимости в поиске новых биомаркеров, способных дополнить СА-125 для достижения необходимого уровня диагностической значимости.

Современные представления о патогенезе РЯ свидетельствуют о том, что большинство форм серозного РЯ происходят из предшественников, находящихся не в ткани яичников, а в фимбрилярной части фаллопиевой трубы — трубной серозной интраэпителиальной карциномы (СТИК) [51–53]. Между развитием аномальных клеток или предраковых поражений в фаллопиевых трубах и началом рака яичников существует промежуток времени в несколько лет. Кроме того, гипотезой о происхождении эндометриоидного и светлоклеточного РЯ является предположение об их возникновении из малигнизированного эндометрия матки [8, 9]. Несмотря на то, что вопрос о происхождении некоторых гистотипов РЯ остается дискуссионным, новая парадигма возникновения РЯ может привести к кардинальной смене направлений научных исследований. Принципиальным моментом для ранней диагностики РЯ является то, что предраковые и раковые клетки могут присутствовать в полости матки и, соответственно, могут детектироваться в маточных аспиратах. Это дает основание для использования цитологического и молекулярно-генетического исследования аспирата или смывов из полости матки не только с целью выявления аномальных изменений в эндометрии, но и для диагностики большинства форм РЯ.

Возможность использования иммуноцитохимического анализа клеток из аспиратов тела матки для диагностики РЯ была продемонстрирована в работе К. Жордания и соавт. Было показано, что у пациенток с клиническим диагнозом РЯ при иммуноцитохимическом исследовании материала из полости матки в 79% (в 31 из 39) наблюдений в клетках определялась коэкспрессия белка p53, WT1, CA125, Ki67 [54]. В последующих работах проанализирована диагностическая значимость иммуноцитохимического окрашивания на белки p53, p16 и WT1. Показано, что наибольшей диагностической ценностью обладал маркер p53, экс-

прессия которого прослеживалась в 63,3% наблюдений серозного рака яичников, тогда как маркеры p16 и WT1 выявлялись в 50 и 47%, соответственно. В контрольной группе положительная реакция этих маркеров не наблюдалась [55].

Использование клеток из тела матки для детекции мутаций РЯ методом мультиплексного ПЦР, включающего анализ фрагментов 18 генов: *AKT1*, *APC*, *BRAF*, *CDKN2A*, *CTNNB1*, *EGFR*, *FBXW7*, *FGFR2*, *KRAS*, *MAPK1*, *NRAS*, *PIK3CA*, *PIK3R1*, *POLE*, *PPP2R1A*, *PTEN*, *RNF43* и *TP53*, описано в единственной работе [56]. Показано, что мутационный профиль клеток из тела матки в высокой степени соответствует профилю первичной опухоли РЯ. Аналогичным образом удалось установить связь между метилированием генов *HOXA9* и *HOXA11* в нормальном эндометрии и наличием РЯ [57].

Таким образом, аспирационный материал из полости матки является уникальным источником клеток для цитологического и генетического анализов. Дальнейшее исследование профилей метилирования и выявления специфических для РЯ эпигенетических нарушений может быть использовано для разработки панели маркеров для диагностики РЯ на ранних стадиях с применением неинвазивных подходов, в том

числе при помощи анализа клеток маточных аспиратов.

Заключение

Преимущества использования метилирования ДНК в качестве маркера очевидны, однако анализ aberrантного метилирования генов при РЯ все еще является относительно новой областью и лишь немногие маркеры метилирования проанализированы достаточно хорошо. Дальнейшая работа по эпигенетическому профилированию на больших выборках образцов РЯ с использованием современных подходов, основанных на массовом параллельном секвенировании, позволит выявить новые паттерны метилирования ДНК, связанные с инициацией онкологического процесса, прогрессией заболевания, и паттерны метилирования, связанные с развитием резистентности опухоли к химиотерапии. И на их основе можно будет создать панели маркеров метилирования для использования в клинической практике, в том числе с применением неинвазивных подходов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований № 18-29-09138.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Jemal A., Bray F., Center M.M., et al. Global cancer statistics // *CA Cancer J Clin.* 2011;61(2):69–90.
2. Аксель Е.М. Заболеваемость и смертность от злокачественных новообразований органов женской репродуктивной системы в России // *Онкогинекология.* — 2015. — № 1. — С. 6–15.
3. Fleming J.S., Beaugie C.R., Haviv I., et al. Incessant ovulation, inflammation and epithelial ovarian carcinogenesis: revisiting old hypotheses // *Mol Cell Endocrinol.* 2006;247(1–2):4–21.
4. Jacobs I., Bast R.C. Jr. The CA 125 tumour-associated antigen: a review of the literature // *Hum Reprod.* 1989;4(1):1–12.
5. Koshiyama M., Matsumura N., Konishi I. Recent concepts of ovarian carcinogenesis: type I and type II // *Biomed Res Int.* 2014; 934261.
6. Hardy L.R., Salvi A., Burdette J.E. UnPAXing the Divergent Roles of PAX2 and PAX8 in High-Grade Serous Ovarian Cancer // *Cancers (Basel).* 2018;10(8).
7. Kurman R.J., Shih IeM. The Dualistic Model of Ovarian Carcinogenesis: Revisited, Revised, and Expanded // *Am J Pathol.* 2016;186(4):733–747.
8. Chao A., Wu R.C., Jung S.M., et al. Implication of genomic characterization in synchronous endometrial and ovarian cancers of endometrioid histology // *Gynecol Oncol.* 2016;143(1):60–67.
9. Pearce C.L., Templeman C., Rossing M.A., et al. Association between endometriosis and risk of histological subtypes of ovarian cancer: a pooled analysis of case-control studies // *Lancet Oncol.* 2012;13(4):385–394.
10. Vanyushin B.F., Tkacheva S.G., Belozersky A.N. Rare bases in animal DNA // *Nature.* 1970;225(5236):948–949.

11. *Talens R.P., Boomsma D.I., Tobi E.W., et al.* Variation, patterns, and temporal stability of DNA methylation: considerations for epigenetic epidemiology // *FASEB J.* 2010; 24(9):3135–3144.
12. *Esteller M., Sanchez-Cespedes M., Rosell R., et al.* Detection of aberrant promoter hypermethylation of tumor suppressor genes in serum DNA from non-small cell lung cancer patients // *Cancer Res.* 1999; 59(1):67–70.
13. *Sharma S., Salehi F., Scheithauer B.W., et al.* Role of MGMT in tumor development, progression, diagnosis, treatment and prognosis // *Anticancer Res.* 2009;29(10):3759–3768.
14. *Ibanez de Caceres I., Battagli C., Esteller M., et al.* Tumor cell-specific BRCA1 and RASSF1A hypermethylation in serum, plasma, and peritoneal fluid from ovarian cancer patients // *Cancer Res.* 2004;64(18):6476–6481.
15. *Barton C.A., Hacker N.F., Clark S.J., et al.* DNA methylation changes in ovarian cancer: implications for early diagnosis, prognosis and treatment // *Gynecol Oncol.* 2008;109(1):129–139.
16. *Donninger H., Vos M.D., Clark G.J.* The RASSF1A tumor suppressor // *J Cell Sci.* 2007;120(Pt 18):3163–3172.
17. *Vos M.D., Ellis C.A., Bell A., et al.* Ras uses the novel tumor suppressor RASSF1 as an effector to mediate apoptosis // *J Biol Chem.* 2000;275(46):35669–35672.
18. *Shi H., Li Y., Wang X., et al.* Association between RASSF1A promoter methylation and ovarian cancer: a meta-analysis // *PLoS One.* 2013;8(10): e76787.
19. *Giannopoulou L., Chebouti I., Pavlakis K., et al.* RASSF1A promoter methylation in high-grade serous ovarian cancer: A direct comparison study in primary tumors, adjacent morphologically tumor cell-free tissues and paired circulating tumor DNA // *Oncotarget.* 2017;8(13):21429–21443.
20. *Bondurant A.E., Huang Z., Whitaker R.S., et al.* Quantitative detection of RASSF1A DNA promoter methylation in tumors and serum of patients with serous epithelial ovarian cancer // *Gynecol Oncol.* 2011;123(3):581–587.
21. *Rezk N.A., Mohamed R.H., Alnemr A.A., et al.* Promoter Methylation of RASSF1A Gene in Egyptian Patients with Ovarian Cancer // *Appl Biochem Biotechnol.* 2018; 185(1):153–162.
22. *Takaoka M., Miki Y.* BRCA1 gene: function and deficiency // *Int J Clin Oncol.* 2018;23(1):36–44.
23. *Zhu X., Zhao L., Lang J.* The BRCA1 Methylation and PD-L1 Expression in Sporadic Ovarian Cancer // *Int J Gynecol Cancer.* 2018;28(8):1514–1519.
24. *Pradhatmo H., Dasuki D., Anwar M., et al.* Methylation status and immunohistochemistry of BRCA1 in epithelial ovarian cancer // *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;15(21):9479–9485.
25. *Teodoridis J.M., Hall J., Marsh S., et al.* CpG island methylation of DNA damage response genes in advanced ovarian cancer // *Cancer Res.* 2005;65(19):8961–8967.
26. *Alsop K., Fereday S., Meldrum C., et al.* BRCA mutation frequency and patterns of treatment response in BRCA mutation-positive women with ovarian cancer: a report from the Australian Ovarian Cancer Study Group // *J Clin Oncol.* 2012;30(21):2654–2663.
27. *Banerjee S., Kaye S.B., Ashworth A.* Making the best of PARP inhibitors in ovarian cancer // *Nat Rev Clin Oncol.* 2010;7(9):508–519.
28. *Stefansson O.A., Villanueva A., Vidal A., et al.* BRCA1 epigenetic inactivation predicts sensitivity to platinum-based chemotherapy in breast and ovarian cancer // *Epigenetics.* 2012;7(11):1225–1229.
29. *Ruscito I., Dimitrova D., Vasconcelos I., et al.* BRCA1 gene promoter methylation status in high-grade serous ovarian cancer patients — a study of the tumour Bank ovarian cancer (TOC) and ovarian cancer diagnosis consortium (OVCAD) // *Eur J Cancer.* 2014;50(12):2090–2098.
30. *Bernards S.S., Pennington K.P., Harrell M.I., et al.* Clinical characteristics and outcomes of patients with BRCA1 or RAD51C methylated versus mutated ovarian carcinoma // *Gynecol Oncol.* 2018;148(2):281–285.
31. *Evans D.G.R., van Veen E.M., Byers H.J., et al.* A Dominantly Inherited 5' UTR Variant Causing Methylation-Associated Silencing of BRCA1 as a Cause of Breast and Ovarian Cancer // *Am J Hum Genet.* 2018;103(2):213–220.
32. *Gerson S.L.* MGMT: its role in cancer aetiology and cancer therapeutics // *Nat Rev Cancer.* 2004;4(4):296–307.
33. *Soejima H., Zhao W., Mukai T.* Epigenetic silencing of the MGMT gene in cancer // *Biochem Cell Biol.* 2005;83(4):429–437.
34. *Chen R., Zheng Y., Zhuo L., et al.* Association between MGMT Promoter Methylation and Risk of Breast and Gynecologic Cancers: A Systematic Review and Meta-Analysis // *Sci Rep.* 2017;7(1):12783.
35. *Bady P., Sciuscio D., Diserens A.C., et al.* MGMT methylation analysis of glioblastoma on the Infinium methylation BeadChip identifies two distinct CpG regions associated with gene silencing and outcome, yielding a prediction model for comparisons across datasets, tumor grades, and CIMP-status // *Acta Neuropathol.* 2012;124(4):547–560.

36. *Shah N., Lin B., Sibenaller Z., et al.* Comprehensive analysis of MGMT promoter methylation: correlation with MGMT expression and clinical response in GBM // *PLoS One*. 2011;6(1):e16146.
37. *Chai R.C., Liu Y.Q., Zhang K.N., et al.* A novel analytical model of MGMT methylation pyrosequencing offers improved predictive performance in patients with gliomas // *Mod Pathol*. 2019;32(1):4–15.
38. *Sellar G.C., Watt K.P., Rabiasz G.J., et al.* OPCML at 11q25 is epigenetically inactivated and has tumor-suppressor function in epithelial ovarian cancer // *Nat Genet*. 2003;34(3):337–343.
39. *Chen H., Ye F., Zhang J., et al.* Loss of OPCML expression and the correlation with CpG island methylation and LOH in ovarian serous carcinoma // *Eur J Gynaecol Oncol*. 2007;28(6):464–467.
40. *Reed J.E., Dunn J.R., du Plessis D.G., et al.* Expression of cellular adhesion molecule ‘OPCML’ is down-regulated in gliomas and other brain tumours // *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2007;33(1):77–85.
41. *Cui Y., Ying Y., van Hasselt A., et al.* OPCML is a broad tumor suppressor for multiple carcinomas and lymphomas with frequently epigenetic inactivation // *PLoS One*. 2008;3(8):e2990.
42. *Duarte-Pereira S., Paiva F., Costa V.L., et al.* Prognostic value of opioid binding protein/cell adhesion molecule-like promoter methylation in bladder carcinoma // *Eur J Cancer*. 2011;47(7):1106–1114.
43. *Zhou F., Tao G., Chen X., et al.* Methylation of OPCML promoter in ovarian cancer tissues predicts poor patient survival // *Clin Chem Lab Med*. 2014;52(5):735–742.
44. *Wang B., Yu L., Luo X., et al.* Detection of OPCML methylation, a possible epigenetic marker, from free serum circulating DNA to improve the diagnosis of early-stage ovarian epithelial cancer // *Oncol Lett*. 2017;14(1):217–223.
45. *Lappin T.R., Grier D.G., Thompson A., et al.* HOX genes: seductive science, mysterious mechanisms // *Ulster Med J*. 2006;75(1):23–31.
46. *Du H., Taylor H.S.* Molecular regulation of mullerian development by Hox genes // *Ann NY Acad Sci*. 2004;1034:152–165.
47. *Cheng W., Liu J., Yoshida H., et al.* Lineage infidelity of epithelial ovarian cancers is controlled by HOX genes that specify regional identity in the reproductive tract // *Nat Med*. 2005;11(5):531–537.
48. *Fiegl H., Windbichler G., Mueller-Holzner E., et al.* HOXA11 DNA methylation — a novel prognostic biomarker in ovarian cancer // *Int J Cancer*. 2008;123(3):725–729.
49. *Montavon C., Gloss B.S., Warton K., et al.* Prognostic and diagnostic significance of DNA methylation patterns in high grade serous ovarian cancer // *Gynecol Oncol*. 2012;124(3):582–588.
50. *Henderson J.T., Webber E.M., Sawaya G.F.* Screening for Ovarian Cancer: Updated Evidence Report and Systematic Review for the US Preventive Services Task Force // *JAMA*. 2018;319(6):595–606.
51. *Piek J.M., van Diest P.J., Zweemer R.P., et al.* Dysplastic changes in prophylactically removed Fallopian tubes of women predisposed to developing ovarian cancer // *J Pathol*. 2001;195(4):451–456.
52. *Kuhn E., Kurman R.J., Vang R., et al.* TP53 mutations in serous tubal intraepithelial carcinoma and concurrent pelvic high-grade serous carcinoma — evidence supporting the clonal relationship of the two lesions // *J Pathol*. 2012;226(3):421–426.
53. *Perets R., Wyant G.A., Muto K.W., et al.* Transformation of the fallopian tube secretory epithelium leads to high-grade serous ovarian cancer in Brca;Tp53;Pten models // *Cancer Cell*. 2013;24(6):751–765.
54. *Жордания К.И., Паяниди Ю.Г., Савостикова М.В., Паниченко И.В., Калиничева Е.В., Гокадзе Н.Н.* Некоторые нюансы патогенеза рака яичников // *Онкогинекология*. — 2016. — № 1. — С. 36–46.
55. *Жордания К.И., Гокадзе Н.Н., Савостикова М.В., Краснощекова Г.И., Паяниди Ю.Г., Сельчук В.Ю.* Клеточная экспрессия маркеров p53, p16, WT1 в аспирационном материале из полости матки у больных tuboовариальным серозным раком // *Онкогинекология*. — 2019. — № 2. — С. 35–42.
56. *Wang Y., Li L., Douville C., et al.* Evaluation of liquid from the Papanicolaou test and other liquid biopsies for the detection of endometrial and ovarian cancers // *Sci Transl Med*. 2018;10(433).
57. *Widschwendter M., Apostolidou S., Jones A.A., et al.* HOXA methylation in normal endometrium from premenopausal women is associated with the presence of ovarian cancer: a proof of principle study // *Int J Cancer*. 2009;125(9):2214–2218.
58. *Mikeska T., Alsop K.; Australian Ovarian Cancer Study, et al.* No evidence for PALB2 methylation in high-grade serous ovarian cancer // *J Ovarian Res*. 2013;6(1):26.
59. *Ozdemir F., Altinisik J., Karateke A., et al.* Methylation of tumor suppressor genes in ovarian cancer // *Exp Ther Med*. 2012;4(6):1092–1096.

60. *Vo L.T., Thuan T.B., Thu D.M.*, et al. Methylation profile of BRCA1, RASSF1A and ER in Vietnamese women with ovarian cancer // *Asian Pac J Cancer Prev.* 2013;14(12):7713–7718.

61. *An J., Wei Q., Liu Z.*, et al. Messenger RNA expression and methylation of candidate tumor-suppressor genes and risk of ovarian cancer — a case-control analysis // *Int J Mol Epidemiol Genet.* 2010;1(1):1–10.

62. *Shilpa V., Bhagat R., Premalata C.S.*, et al. Relationship between promoter methylation & tissue expression of MGMT gene in ovarian cancer // *Indian J Med Res.* 2014;140(5):616–623.

АВТОРЫ

Абрамов Павел Михайлович, аспирант лаборатории молекулярной биологии вирусов, НИИ канцерогенеза, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24, e-mail: pavel.abr.mbf@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7995-3490>

Abramov Pavel M., PhD student (Biol.), «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 115478, Moscow, Kashirskoye shosse, 24, e-mail: pavel.abr.mbf@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7995-3490>

Винокурова Светлана Владимировна, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной биологии вирусов, НИИ канцерогенеза, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24, e-mail: vinokourova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1615-3928>

Vinokurova Svetlana V., PhD. (Biol.), «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 115478, Moscow, Kashirskoye shosse, 24, e-mail: vinokourova@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1615-3928>

Елкин Данила Сергеевич, аспирант лаборатории молекулярной биологии вирусов, НИИ канцерогенеза, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24, e-mail: yodanila@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4793-6063>

Elkin Danila S., PhD, student (Biol.), «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 115478, Moscow, Kashirskoye shosse, 24, e-mail: yodanila@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4793-6063>