



<https://doi.org/10.29001/2073-8552-2024-39-1-156-162>
УДК 618.19-006.6-02:575.174.015.3(470.31/.32)

Полиморфный локус rs8023580 NR2F2-AS1 ассоциирован с риском развития рака молочной железы у жителей Центральной России

К.Н. Пасенов, И.В. Пономаренко, М.И. Чурносков

Белгородский государственный национальный исследовательский университет (НИУ БелГУ),
308015, Российская Федерация, Белгород, ул. Победы, 85

Аннотация

Рак молочной железы (РМЖ) является самым распространенным гормон-зависимым генетически детерминированным онкологическим заболеванием среди женщин. Уровень «активных» половых гормонов в организме, связь которых с РМЖ не вызывает сомнений, определяется содержанием белка, транспортирующего половые гормоны (SHBG).

Цель исследования: изучить ассоциации полиморфных локусов, связанных с уровнем SHBG на полногеномном уровне значимости, с риском развития РМЖ.

Материал и методы. Работа выполнена на выборке из 1498 женщин, из которых больных РМЖ – 358 человек, контроль – 1140 индивидуумов. Проведено генотипирование четырех однонуклеотидных полиморфных локусов (SNP), связанных с уровнем SHBG по данным ранее выполненных полногеномных исследований (GWAS): rs7910927 *JMJD1C*, rs4149056 *SLCO1B1*, rs8023580 NR2F2-AS1, rs12150660 SHBG. Для поиска ассоциаций использовался метод логистической регрессии.

Результаты и обсуждение. Полиморфизм rs8023580 гена *NR2F2-AS1* ассоциирован с риском развития РМЖ. Наличие у женщины генотипа *CC* rs8023580 NR2F2-AS1 имеет протективное значение при формировании заболевания (*CC*vs*TC*+*TT* [рецессивная модель]; OR = 0,58; 95%CI = 0,35–0,96; $p = 0,033$; $p_{perm} = 0,042$). SNP rs8023580 NR2F2-AS1 является функционально значимым в печени: локализован в регионе энхансеров, влияет на уровень метилирования участка генома cg01739960 (hg38) и экспрессию гена *RP11-327J17.2*, определяет взаимодействие ДНК с шестью факторами транскрипции (*Foxd1*, *Foxl1*, *Foxq1*, *Mef2*, *PLZF*, *STAT*), которые находятся в *cis*-регуляторной области РНК-полимеразы II, специфичной для последовательности связывания ДНК и определяют активность ДНК-связывающих факторов транскрипции, специфичных для РНК-полимеразы II, вовлечены в процессы клеточной дифференцировки и развития тканей.

Заключение. SHBG-повышающий генотип *CC* rs8023580 гена *NR2F2-AS1* является протективным фактором развития РМЖ.

Ключевые слова:	рак молочной железы, ассоциации, SHBG, rs8023580.
Конфликт интересов:	авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Финансирование:	никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.
Соответствие принципам этики:	информированное согласие было получено от всех участников клинико-генетического исследования. Протокол исследования был согласован с этическим комитетом медицинского института НИУ БелГУ (протокол № 4 от 11.04.2010 г.).
Для цитирования:	Пасенов К.Н., Пономаренко И.В., Чурносков М.И. Полиморфный локус rs8023580 NR2F2 ассоциирован с риском развития рака молочной железы. <i>Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины</i> . 2024;39(1):156–162. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2024-39-1-156-162 .

Чурносков Михаил Иванович, e-mail: churnosov@bsu.edu.ru.

Polymorphic locus rs8023580 NR2F2-AS1 is associated with breast cancer risk in residents of Central Russia

Konstantin N. Pasenov, Irina V. Ponomarenko, Mikhail I. Churnosov

Belgorod State National Research University,
85, Pobedy str., Belgorod, 308015, Russian Federation

Abstract

Breast cancer (BC) is the most common hormone-dependent genetically determined cancer among women. The level of “active” sex hormones in the body, the connection of which with breast cancer is beyond doubt, is determined by the content of the protein transporting sex hormones (SHBG).

Aim: To study associations of polymorphic loci linked with the level of SHBG at the full-genomic level of significance with the risk of developing breast cancer.

Material and Methods. The work was carried out on a sample of 1,498 women, 358 of whom were BC patients, the control was 1140 individuals. Genotyping of four single nucleotide polymorphic loci (SNP) associated with the level of SHBG was performed according to previously performed genome-wide studies (GWAS): rs7910927 *JMJD1C*, rs4149056 *SLCO1B1*, rs8023580 *NR2F2-AS1*, rs12150660 *SHBG*. The method of logistic regression was used to search for associations.

Results and Discussion. SNP rs8023580 of the *NR2F2-AS1* gene is associated with the risk of BC developing. The presence of the CC genotype rs8023580 *NR2F2-AS1* in a woman has a protective value in the formation of the disease (CCvsTC+TT [recessive model]; $OR = 0.58$; 95%CI = 0.35–0.96; $p = 0.033$; $p_{perm} = 0.042$). SNP rs8023580 *NR2F2-AS1* is functionally significant in the liver: it is localized in the enhancer region, affects the level of methylation of the cg01739960 (hg38) genome region, affects the expression of the *RP11-327J17.2* gene, determines the interaction of DNA with six transcription factors (Foxd1, Foxl1, Foxq1, Mef2, PLZF, STAT), which are located in the *cis*-regulatory region of RNA polymerase II, specific for the DNA binding sequence, and determine the activity of DNA-binding transcription factors specific for RNA polymerase II, are involved in the processes of cellular differentiation and tissue development.

Conclusion. The SHBG-enhancing CC genotype rs8023580 of the *NR2F2-AS1* gene is a protective factor in the development of BC.

Keywords:	breast cancer, associations, SHBG, rs8023580.
Conflict of interest:	the authors do not declare a conflict of interest.
Funding:	no author has a financial or property interest in any material or method mentioned.
Compliance with ethical standards:	the informed consent was obtained from all participants of the clinical genetic study. The study was approved by the local ethical committee of the Medical Institute of the Belgorod National Research University (protocol No. 4 of 11.04.2010).
For citation:	Pasenov K.N., Ponomarenko I.V., Churnosov M.I. Polymorphic locus rs8023580 NR2F2-AS1 is associated with breast cancer risk in residents of Central Russia. <i>The Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine</i> . 2024;39(1):156–162. https://doi.org/10.29001/2073-8552-2024-39-1-156-162 .

Введение

Эпидемиологические данные, полученные Международным агентством по изучению рака (International Agency for Research on Cancer) Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) на основе исследования 36 различных опухолей в 185 странах мира, показывают, что в 2020 г. во всем мире было зарегистрировано более 2,261 млн новых случаев РМЖ (11,7% от всех случаев рака) и почти 685 тыс. смертей от этого заболевания (6,9% от всех случаев рака) [1]. В течение ближайших 20 лет (с 2020 по 2040 гг.) ВОЗ (данные Global Cancer Observatory, <https://gco.iarc.fr>) прогнозирует значительный рост числа заболевших РМЖ среди женщин (на 39%, с 2,3 млн до 3,2 млн) и умерших от РМЖ (на 47%, с 0,68 млн до 1,00 млн).

В Российской Федерации РМЖ также является приоритетной медицинской проблемой – РМЖ занимает первое место в структуре онкологической патологии у

женского населения (22,1%, 2021 г.), причем максимальные значения этот показатель имеет среди женщин в возрасте 30–59 лет (29,0%) [2]. За 10-летний период (2011–2021) показатель заболеваемости РМЖ у женского населения РФ увеличился с 74,87 до 89,25 на 100 тыс. населения (прирост составил 18,98% при среднегодовом темпе прироста 1,72%) [2].

РМЖ с генетических позиций (близнецовые, семейные, ассоциативные, полногеномные (GWAS) исследования) активно изучается в последние десятилетия [3–5]. По этому вопросу накоплен значительный фактический материал, убедительно показывающий существенный вклад наследственных факторов (не менее 30%) в подверженность к заболеванию [4]. При этом считается, что лишь в 5% случаев заболевание связано с мутациями в высоко / умеренно-пенетрантных генах (*BRCA1;BRCA2;CDH1;TP53;PTEN* и др.) [4]. GWAS-значимые локусы, несмотря на их многочисленность (известно

более 200 SNP), «описывают» лишь немногим более 40% предполагаемых генетических факторов риска РМЖ [5], что указывает на наличие «скрытой» наследственности (более 50% генетических факторов риска неизвестно).

В патофизиологии РМЖ большое значение имеют половые гормоны (эстрадиол, тестостерон и др.), высокие концентрации которых обуславливают и более высокий риск возникновения заболевания [6–8]. Биологические эффекты половых гормонов, значимые для РМЖ, напрямую зависят от содержания SHBG, который связывает / транспортирует их и таким образом является важнейшим «регулятором» уровня биодоступных (так называемых биологически активных) форм этих половых гормонов [8]. Концентрация циркулирующего SHBG в организме более чем на 50% определяется наследственными факторами, и к настоящему времени известен ряд GWAS-значимых локусов, ассоциированных с уровнем SHBG [9]. Результаты, полученные на основе менделевской рандомизации, демонстрируют генетические связи обратной направленности между уровнем SHBG и риском РМЖ [10]. При этом роль отдельных GWAS-значимых генетических детерминант SHBG в формировании РМЖ не изучалась, что определяет актуальность данной работы.

Цель исследования: изучить ассоциации полиморфных локусов, связанных с уровнем SHBG на полногеномном уровне значимости, с риском развития РМЖ.

Материал и методы

Работа выполнена на выборке из 1498 женщин, из которых больных РМЖ – 358 человек, контроль – 1140 индивидиумов. Выборка больных формировалась с 2010 по 2016 гг. в Белгородском областном онкологическом диспансере и включала пациенток с впервые верифицированным диагнозом «карцинома молочной железы» [11].

Морфологическая диагностика заболевания выполнялась в профильном отделении (иммуногистохимическом) Белгородского областного патолого-анатомического бюро. Контрольная группа была сформирована из женщин без клинических / анамнестических признаков РМЖ (обследование женщин проводилось в ходе профилактических осмотров, выполненных в Белгородской областной клинической больнице за тот же период времени). При формировании групп больных / контроля учитывался ряд критериев: национальность (согласно самоидентификации), место проживания и рождения; в выборки включались русские индивидиумы, проживающие (родившиеся) в Центрально-Черноземном регионе России [12]. Исключались из обследования женщины с тяжелыми соматическими заболеваниями, отказавшиеся от участия в исследовании. Все женщины-участники обследования дали информированное (письменное) подтверждение о своем участии в данном клинико-генетическом исследовании. Этический комитет НИУ БелГУ одобрил настоящее исследование.

Группы больных и контроля имели сопоставимые возрастные характеристики: РМЖ – 55,74 ± 12,79 лет (min – 28 лет; max – 84 года), контроль – 55,02 ± 12,35 лет (min – 29 лет; max – 80 лет), $p = 0,17$. В изучаемых группах подавляющее большинство женщин (68,16% больных и 63,60% в контроле; $p = 0,13$) были в постменопаузе, и лишь около 1/3 женщин имели пременопаузальный статус (31,84% больных и 36,40% в контроле). Среди больных РМЖ стадии T0–T2 имели 74%, а стадии T3–T4 – 26%. У 66% была зарегистрирована экспрессия рецеп-

торов эстрогена (ER+), у 59% экспрессия рецепторов прогестерона (PR+), экспрессия HER-2 выявлена у 36%, тройной негативный молекулярный подтип наблюдался у 22%. Степень злокачественности G1/G2 была отмечена у 68% больных, G3 – у 32%. Наличие метастазов в лимфоузлах (N) наблюдалось у 53% пациенток с РМЖ.

Проведено генотипирование четырех SNP, связанных с уровнем SHBG по данным ранее выполненного GWAS [9]: rs7910927 *JMJD1C*, rs4149056 *SLCO1B1*, rs8023580 *NR2F2-AS1*, rs12150660 *SHBG*. Экспериментальные генетические исследования выполнены на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad): проводилась полимеразная цепная реакция в режиме реального времени с использованием праймеров, разработанных специально для генотипирования вышеуказанных локусов ООО «Тест-Ген» (Россия, г. Ульяновск).

При проведении генетико-статистического анализа были выполнены:

а) сравнительная оценка между ожидаемым и наблюдаемым (согласно равновесию Харди – Вайнберга) распределением полиморфных вариантов как среди больных, так и в контроле;

б) выявление ассоциаций SNP с РМЖ методом логистической регрессии в 4 моделях (аллельная; доминантная; рецессивная; аддитивная) с коррекцией на возраст изучаемых женщин и множественные сравнения (использовались пермутационные процедуры). В программе gPLINK производилось вычисление показателей OR (отношения шансов) и 95%CI (95% доверительный интервал OR). В качестве статистически достоверных считались результаты, удовлетворяющие требованию $p_{perm} \leq 0,05$;

в) анализ регуляторного значения полиморфизма, показавшего значимые ассоциации с заболеванием – rs8023580 *NR2F2-AS1*, в печени, являющейся основным местом образования SHBG в организме [13]. Использовались биоинформатические ресурсы QTLbase (<http://www.mulinlab.org/qtlbase/index.html>; дата обращения – 30.08.2023 г.), HaploReg (<https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>; дата обращения – 29.07.2023), GTExportal (<https://gtexportal.org/home/>; дата обращения – 10.08.2023 г.).

Результаты

При рассмотрении фактического распределения генотипов по 4 изучаемым SNP среди больных и в контроле не выявлено достоверных отклонений от ожидаемого в соответствии с законом Харди – Вайнберга распределения – показатели p_{HWE} превышали значения 0,221 среди больных и 0,075 в контроле (таблица), что указывает на «достаточное» качество проведенного генотипирования и позволяет использовать в полном объеме полученные экспериментальные генетические данные для ассоциативного анализа.

Выявлена статистически достоверная связь минорного аллельного варианта С полиморфного локуса rs8023580 *NR2F2-AS1* с риском развития РМЖ согласно рецессивной генетической модели: генотип СС данного SNP является протективным фактором при возникновении заболевания ($OR = 0,58$; 95% CI 0,36–0,96; $p = 0,033$; $p_{perm} = 0,035$) (см. табл.). Другие три изученных SHBG-значимых полиморфизма (rs7910927 *JMJD1C*, rs4149056 *SLCO1B1*, rs12150660 *SHBG*) не были ассоциированы с РМЖ.

Таблица. Распределение генетических вариантов SHBG-значимых полиморфных локусов у больных раком молочной железы и в контроле

Table. Distribution of genetic variants of SHBG-significant polymorphic loci in patients with BC and in control

Локусы Loci	Аллели, генотипы, генетические модели Alleles, genotypes, genetic models	Больные РМЖ, абс. (%), n = 358 Patients with BC, abs. (%), n = 358	Контроль, абс. (%), n = 1140 Control, abs. (%), n = 1140
rs7910927 JMJ1C	GG	92 (25,99%)	273 (25,00%)
	GT	186 (52,54%)	554 (50,73%)
	TT	76 (21,47%)	265 (24,27%)
	P_{HWE}	0,340	0,672
	Минорный аллель T Minor allele T	47,74%	49,63%
	T vs. G (1)	OR = 0,93; 95% CI 0,78–1,10; $p = 0,381$	
	TT vs. GT vs. GG (2)	OR = 0,93; 95% CI 0,78–1,10; $p = 0,375$	
	TT + GT vs. GG (3)	OR = 0,95; 95% CI 0,72–1,25; $p = 0,710$	
	TT vs. GT + GG (4)	OR = 0,85; 95% CI 0,64–1,14; $p = 0,281$	
rs4149056 SLC1B1	TT	219 (62,04%)	623 (60,37%)
	TC	121 (34,28%)	355 (34,40%)
	CC	13 (3,68%)	54 (5,23%)
	P_{HWE}	0,521	0,721
	Минорный аллель C Minor allele C	20,82%	22,43%
	T vs. C (1)	OR = 0,91; 95% CI 0,74–1,12; $p = 0,373$	
	CC vs. TC vs. TT (2)	OR = 0,91; 95% CI 0,74–1,12; $p = 0,372$	
	CC + TC vs. TT (3)	OR = 0,93; 95% CI 0,73–1,20; $p = 0,579$	
	CC vs. TC + TT (4)	OR = 0,69 ; 95% CI 0,37–1,28; $p = 0,244$	
rs8023580 NR2F2-AS1	TT	187 (52,82%)	565 (52,03%)
	TC	147 (41,53%)	420 (38,67%)
	CC	20 (5,65%)	101 (9,30%)
	P_{HWE}	0,221	0,075
	Минорный аллель C Minor allele C	26,41%	28,64%
	T vs. C (1)	OR = 0,89; 95% CI 0,74–1,08; $p = 0,253$	
	CC vs. TC vs. TT (2)	OR = 0,90; 95% CI 0,74–1,08; $p = 0,257$	
	CC + TC vs. TT (3)	OR = 0,97; 95% CI 0,76–1,23; $p = 0,794$	
	CC vs. TC + TT (4)	OR = 0,58; 95% CI 0,36–0,96; $p = 0,033$	
rs12150860 SHBG	GG	199 (56,21%)	626 (57,01%)
	GT	132 (37,29%)	391 (35,61%)
	TT	23 (6,50%)	81 (7,38%)
	P_{HWE}	0,888	0,078
	Минорный аллель T Minor allele T	25,14%	25,18%
	T vs. G (1)	OR = 1,00; 95% CI 0,82–1,21; $p = 0,983$	
	TT vs. GT vs. GG (2)	OR = 1,00; 95% CI 0,82–1,21; $p = 0,982$	
	TT + GT vs. GG (3)	OR = 1,03; 95% CI 0,81–1,31; $p = 0,792$	
	TT vs. GT + GG (4)	OR = 0,87; 95% CI 0,54–1,41; $p = 0,577$	

Примечание: OR – отношение шансов, 95% CI – 95% доверительный интервал OR, p – уровень статистической значимости (жирным обозначены достоверные различия). Анализировались 4 генетические модели: аллельная (1), аддитивная (2), доминантная (3), рецессивная (4); для аллелей указана частота; P_{HWE} – показатель различий между наблюдаемым и ожидаемым распределением генотипов согласно закону Харди – Вайнберга.

Note: BC – breast cancer, OR – odds ratio, 95% CI – 95% confidence interval OR, p – level of statistical significance (bold denotes significant differences). Four genetic models were analyzed: allelic (1), additive (2), dominant (3), recessive (4); frequency is indicated for alleles; P_{HWE} is an indicator of differences between the observed and expected distribution of genotypes according to the Hardy – Weinberg law.

Материалы программы Harlogreg указывают на важное регуляторное значение rs8023580 гена NR2F2-AS1 в печени (Epigenome ID-E066), являющегося основным местом образования SHBG в организме – данный полиморфизм расположен в геноме в области фракции гистоновых белков H3K4me1, которые являются белковыми маркерами таких модуляторов генной активности, как энхансеры. Кроме это, в базе Harlogreg приводится информация о регуляторной «значимости» этого полиморфизма (находится в области энхансеров) в клеточных линиях карциномы печени (HepG2 Hepatocellular Carcinoma Cell Line; Epigenome ID-E118).

Согласно данным QTLbase, rs8023580 гена NR2F2-AS1 связан с уровнем метилирования участка генома cg01739960 (hg38) (chr15:96715164) в печени (карцинома печени). При этом аллельный вариант C rs8023580 на полногеномном уровне статистической значимости ассоциирован с гиперметилированием ДНК ($\beta = 0,36$, $p = 1,62 \times 10^{-8}$).

In silico данные, размещенные в базе GTExportal, указывают на корреляцию rs8023580 NR2F2-AS1 с транскрипционной активностью гена RP11-327J17.2 в печени. Генетический вариант C rs8023580 ассоциирован с низким уровнем продукции мРНК данного гена ($\beta = -0,23$; $p = 4,60 \times 10^{-6}$).

Одним из важнейших геном-значимых потенциальных регуляторных эффектов rs8023580 NR2F2-AS1 может являться его локализация в области участков (мотивов) ДНК, взаимодействующих с шестью факторами транскрипции – Foxd1, Foxl1, Foxq1, Mef2, PLZF, STAT (данные Harlogreg). Причем генетический вариант C rs8023580 NR2F2-AS1 определяет низкую аффинность мотивов ДНК к подавляющему числу (5 из 6) из вышеуказанных факторов транскрипции – Foxd1 (показатель различий в аффинности к фактору транскрипции аллелей C и T составляет –12,0), Foxl1 (–3,4), Foxq1 (–11,8), Mef2 (–11,9), PLZF (–1,0); лишь к одному фактору транскрипции – STAT (+2,1) – данный аллельный вариант повышает «чувствительность» мотива ДНК. Согласно базе данных Gene Ontology, шесть факторов транскрипции, на взаимодействии которых с ДНК влияет rs8023580 NR2F2-AS1, относятся к группе факторов транскрипции типа «спираль – виток – спираль» ($p_{\text{fdr}} = 0,0008$), находятся в cis-регуляторной области РНК-полимеразы II, специфичной для последовательности связывания ДНК ($p_{\text{fdr}} = 0,018$), определяют активность ДНК-связывающих факторов транскрипции, специфичных для РНК-полимеразы II ($p_{\text{fdr}} = 0,012$), вовлечены в процессы клеточной дифференцировки ($p_{\text{fdr}} = 0,034$) и развития тканей ($p_{\text{fdr}} = 0,006$).

Обсуждение

В настоящем исследовании показана связь GWAS-значимого для SHBG полиморфного локуса rs8023580 NR2F2-AS1 с РМЖ. Генотип CC rs8023580 NR2F2-AS1 является протективным фактором развития опухоли ($OR = 0,58$). SNP rs8023580 NR2F2-AS1 «показал себя» функционально значимым в печени: локализован в регионе энхансеров, влияет на уровень метилирования участка генома cg01739960 и экспрессию гена RP11-327J17.2, определяет взаимодействие ДНК с шестью факторами транскрипции (Foxd1, Foxl1, Foxq1, Mef2, PLZF, STAT). РМЖ-протективный генетический вариант C rs8023580 NR2F2-AS1 связан с гиперметилированием участка генома cg01739960 (hg38), низкой экспрессией гена

RP11-327J17.2, обуславливает пониженную аффинность ДНК к подавляющему большинству факторов транскрипции (за исключением STAT).

В ранее выполненном GWAS показана ассоциация *rs8023580 NR2F2-AS1* с уровнем SHBG у женщин, причем с низким содержанием SHBG был связан «мажорный» аллель T этого SNP ($\beta = 0,038$); соответственно, высокий уровень SHBG маркируется альтернативным для этого аллеля минорным генетическим вариантом C данного полиморфизма [9]. Таким образом, согласно нашим данным, SHBG-повышающий генетический вариант C *rs8023580 NR2F2-AS1* является протективным фактором возникновения РМЖ.

Наши результаты соответствуют данным ранее проведенных исследований по этой теме. Так, в масштабных исследованиях N.L. Dimou и соавт. [10], F. Chen и соавт. [7], выполнивших менделевскую рандомизацию GWAS данных, показана генетическая связь между повышенным уровнем SHBG и низким риском возникновения РМЖ у женщин (в целом и ER-позитивного варианта заболевания).

SHBG в основном образуется в печени, и благодаря наличию стероид-связывающих сайтов он взаимодействует с половыми гормонами (тестостероном, эстрогенами и др.), связывает / транспортирует их, оказывая таким образом влияние на биодоступность и, соответственно, активность этих гормонов в организме [13]. Согласно нашим данным, *rs8023580 NR2F2-AS1* является эпигенетически «активным» в печени (находится в энхансерных регионах, связан с уровнем метилирования генома и экспрессией гена *RP11-327J17.2*, находится в мотивах ДНК, взаимодействующих с шестью транскрипционными факторами), что может являться медико-биологической основой связи этого полиморфизма с уровнем продукции SHBG.

Согласно имеющимся литературным данным, SHBG имеет первостепенное значение в детерминации уровня «активного» (биодоступного) тестостерона в женском организме [8, 13], роль которого в развитии РМЖ доказана в масштабных эпидемиологических исследованиях [6, 14]. В исследовании S. Tin Tin и соавт., основанном на изучении сывороточного уровня тестостерона у 30 565 пременопаузальных (из них 527 имели РМЖ) и 133 294 постменопаузальных женщин (из них 2 997 имели РМЖ), показано рискованное значение как общего ($HR = 1,18$; 95% CI : 1,14–1,23), так и свободного ($HR = 1,31$; 95% CI : 1,23–1,40) тестостерона для РМЖ у постменопаузальных женщин и отсутствие его связи с заболеванием у пременопаузальных женщин [6]. В масштабной работе S.N. Tang и соавт., выполненной с использованием менделевской рандомизации на материале многочисленной выборки женщин ($n = 420\,000$) из UK Biobank ($n = 194\,174$) и Breast Cancer Association Consortium ($n = 228\,951$), продемонстрирована прямая генетическая связь между риском РМЖ и уровнем тестостерона ($OR = 1,12$) [14].

Механизмы, лежащие в основе связи тестостерона с РМЖ, являются малоизученными и во многом остаются неясными [6, 8]. В литературе приводятся следующие патофизиологические обоснования связи тестостерона с РМЖ, причем, как правило, более высокое содержание тестостерона имеет рискованное значение для РМЖ [6, 8, 15, 16]. Во-первых, тестостерон под действием ароматазы может преобразовываться в эстрадиол в жировой ткани и других органах, включая опухолевые клетки молочной железы, и таким образом реализовывать свои рискованные

для РМЖ эффекты через эстроген-опосредованные патофизиологические механизмы [6].

Во-вторых, тестостерон участвует в контроле роста эпителия молочной железы за счет сбалансированного взаимодействия между двумя его активными метаболитами – эстрадиола (стимулирует пролиферацию клеток) и дигидротестостерона (ингибирует пролиферацию клеток). При этом повышенное содержание в организме тестостерона приводит к более высокой выработке эстрогенов и, соответственно, к гиперпролиферации клеток, которая не уравнивается антипролиферативным действием дигидротестостерона [15]. Предполагается, что этот сдвиг в балансе андрогенов и эстрогенов лежит в генезе ER-положительных опухолей [15].

В-третьих, тестостерон может напрямую взаимодействовать с рецепторами андрогенов, которые присутствуют в опухолевых клетках молочной железы [16]. Рецепторы андрогенов находятся в цитоплазме и при отсутствии лигандов (андрогенов) связываются с белками теплового шока. Как только андрогены попадают в клетку, они соединяются со своими рецепторами, при этом данный комплекс (андрогенырецепторы андрогенов) отсоединяется от белков теплового шока и переносит в ядро, где, взаимодействуя с различными ко-стимуляторами, ко-репрессорами, регуляторами транскрипции (miR-204, SOX-4, FOXA1 и др.), модулируют экспрессию ряда генов (*HER3, MYC, PTEN, GPER* и др.), связанных с апоптозом, дифференцировкой, ангиогенезом, пролиферацией клеток, в том числе опухолевых (сигнальный путь Wnt/ β -катенина, PI3K/AKT и др.) [16].

В-четвертых, молочная железа является модифицированной апокринной железой, которая (ее апокринные клетки) при стимулирующем действии андрогенов синтезирует эпидермальный фактор роста; взаимодействие данного фактора роста с соответствующими рецепторами (рецепторы эпидермального фактора роста и фактора роста эпителия человека 2) приводит к «активизации» клеточной пролиферации [15].

Литературные материалы указывают на существенное влияние SHBG на содержание «активного» (биодоступного) эстрадиола в женском организме [8, 13]. При этом роль эстрогенов в возникновении РМЖ (и в первую очередь при ER-позитивном РМЖ) подтверждена в многочисленных исследованиях [8, 17, 18]. В литературе указывается на несколько биологических механизмов, лежащих в основе рискованного влияния эстрогенов на развитие РМЖ [8, 17, 18].

Во-первых, считается, что эстрогены повышают пролиферативную активность эпителиальных клеток молочной железы, и при этом в ходе более частых репликаций ДНК этих клеток увеличивается вероятность возникновения мутаций, что может потенцировать последующее опухолевое перерождение клеток эпителия молочной железы [17, 18].

Во-вторых, повышенная пролиферация эпителиальных клеток молочной железы под действием эстрогенов сопровождается повышенной функциональной активностью митохондрий (обеспечивают дополнительный синтез энергии для чрезмерно пролиферирующих клеток), что потенциально может привести к увеличению содержания активных форм кислорода (оказывают повреждающее действие на ДНК) как побочного продукта процессов митохондриального окислительного фосфорилирования, способствуя тем самым образованию опухолевых клеток в молочной железе [17, 18].

В-третьих, метаболиты эстрогенов (полухиноны, хиноны) обладают мутагенными свойствами и могут за счет образования аддуктов и формирования активных форм кислорода приводить к повреждению ДНК [19]. Причем для метаболитов эстрогенов, взаимодействующих непосредственно с ДНК, не требуется наличие рецепторов эстрогенов для реализации своих патогенных эффектов, что может объяснить связь эстрогенов с развитием ER-негативного РМЖ [19].

В-четвертых, эстрогены могут обуславливать нарушения в клеточных реакциях на повреждение ДНК (нарушаются киназные механизмы оценки клеткой масштаба и тяжести повреждения ДНК, чтобы инициировать остановку клеточного цикла, репарацию или в случае непоправимого повреждения апоптоз) и механизмов репарации ДНК (нарушается эксцизионная репарация, нуклеотидная эксцизионная репарация, репарация несоответствия (mismatch) [17, 18].

Итак, эстрогены, обладая выраженными митогенными и мутагенными эффектами, стимулируют пролиферацию и канцерогенез в 60–70% случаев РМЖ [17]. Считается, что повышенный уровень эстрогенов в сыворотке крови приводит к увеличению риска развития РМЖ в 2–2,5 раза [20].

Таким образом, повышение содержания SHBG в организме (определяется SHBG-повышающими генетическими вариантами), приводит к снижению уровня свободных тестостерона / эстрогенов в организме и, соответственно, определяет снижение их про-онкогенных фенотипических эффектов, что в конечном итоге является протективным фактором для развития РМЖ. Вышеприведенное патолофизиологическое обоснование может лежать в основе, выявленной нами связи SHBG-повышающего аллельного варианта C rs8023580 NR2F2-AS1 с низким риском развития РМЖ.

Заключение

Генотип CC rs8023580 гена NR2F2-AS1 (является GWAS-ассоциированным с повышенным уровнем SHBG в организме) является протективным фактором развития РМЖ ($OR = 0,58$; $p_{perm} = 0,042$). SNP rs8023580 NR2F2-AS1 проявляет выраженные функциональные эффекты (локализован в регионе энхансеров, влияет на уровень метилирования участка генома cg01739960 (hg38) и экспрессию гена RP11-327J17.2, определяет взаимодействие ДНК с факторами транскрипции Foxd1, Foxl1, Foxq1, Mef2, PLZF, STAT) в печени, являющейся основным местом образования SHBG в организме.

Литература / References

- Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A. et al. 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.
- Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. (ред.). Злокачественные новообразования в России в 2021 г. (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; 2022:252. Kaprin A.D., Starinsky V.V., Shakhzadova A.O. (eds.). Malignant neoplasms in Russia in 2021 (morbidity and mortality). Moscow: Moscow Oncological Research Institute named after P.A. Herzen – Branch of FGBU «NMTC Radiology» Ministry of Health of Russia; 2022:252. (In Russ.).
- Павлова Н.В., Орлова В.С., Батлуцкая И.В., Ефремова О.А., Пономаренко И.В. Роль высокопенетрантных мутаций в генах BRCA1 и CHEK2 в характере ассоциаций полиморфизма генов матриксных металлопротеиназ с раком молочной железы. *Научные результаты биомедицинских исследований.* 2022;8(2):180–197. Pavlova N.V., Orlova V.S., Batlutskaya I.V., Efremova O.A., Ponomarenko I.V. The role of highly penetrant mutations in BRCA1 and CHEK2 genes in the pattern of associations of matrix metalloproteinase gene polymorphisms with breast cancer. *Research Results in Biomedicine.* 2022;8(2):180–197. (In Russ.). DOI: 10.18413/2658-6533-2022-8-2-0-4.
- Lilyquist J., Ruddy K.J., Vachon C.M., Couch F.J. Common Genetic Variations and Breast Cancer Risk—Past, Present, and Future. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2018;27(4):380–394. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-17-1144.
- Michailidou K., Lindström S., Dennis J., Beesley J., Hui S., Kar S. et al. Association analysis identifies 65 new breast cancer risk loci. *Nature.* 2017;551(7678):92–94. DOI: 10.1038/nature24284.
- Tin Tin S., Reeves G.K., Key T.J. Endogenous hormones and risk of invasive breast cancer in pre- and post-menopausal women: findings from the UK Biobank. *Br. J. Cancer.* 2021;125(1):126–134. DOI: 10.1038/s41416-021-01392-z.
- Chen F., Wen W., Long J., Shu X., Yang Y., Shu X.O. et al. Mendelian randomization analyses of 23 known and suspected risk factors and biomarkers for breast cancer overall and by molecular subtypes. *Int. J. Cancer.* 2022;151(3):372–380. DOI: 10.1002/ijc.34026.
- Arthur R.S., Xue X., Rohan T.E. Prediagnostic circulating levels of sex steroid hormones and SHBG in relation to risk of ductal carcinoma *in situ* of the breast among UK Women. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2020;29(5):1058–1066. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-19-1302.
- Coviello A.D., Haring R., Wellons M., Vaidya D., Lehtimäki T., Keildson S et al. A genome-wide association meta-analysis of circulating sex hormone-binding globulin reveals multiple loci implicated in sex steroid hormone regulation. *PLoS Genet.* 2012;8(7):e1002805. DOI: 10.1371/journal.pgen.1002805.
- Dimou N.L., Papadimitriou N., Gill D., Christakoudi S., Murphy N., Gunter M.J et al. Sex hormone binding globulin and risk of breast cancer: a Mendelian randomization study. *Int. J. Epidemiol.* 2019;48(3):807–816. DOI: 10.1093/ije/dyz107.
- Pavlova N., Demin S., Churnosov M., Reshetnikov E., Aristova I., Churnosova M. et al. Matrix metalloproteinase gene polymorphisms are associated with breast cancer in the Caucasian Women of Russia. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(20):12638. DOI: 10.3390/ijms232012638.
- Головченко И.О. Генетические детерминанты уровня половых гормонов у больных эндометриозом. *Научные результаты биомедицинских исследований.* 2023;9(1):5–21. Golovchenko I.O. Genetic determinants of sex hormone levels in endometriosis patients. *Research Results in Biomedicine.* 2023;9(1):5–21. (In Russ.). DOI: 10.18413/2658-6533-2023-9-1-0-1.
- Hammond G.L. Plasma steroid-binding proteins: primary gatekeepers of steroid hormone action. *J. Endocrinol.* 2016;230(1):R13–R25. DOI: 10.1530/JOE-16-0070.
- Tang S.N., Zuber V., Tsilidis K.K. Identifying and ranking causal biochemical biomarkers for breast cancer: a Mendelian randomisation study. *BMC Med.* 2022;20(1):457. DOI: 10.1186/s12916-022-02660-2.
- Secreto G., Girombelli A., Krogh V. Androgen excess in breast cancer development: implications for prevention and treatment. *Endocr. Relat. Cancer.* 2019;26(2):R81–R94. DOI: 10.1530/ERC-18-0429.
- Chen M., Yang Y., Xu K., Li L., Huang J., Qiu F. Androgen receptor in breast cancer: from bench to bedside. *Front. Endocrinol. (Lausanne).* 2020;11:573. DOI: 10.3389/fendo.2020.00573.
- Caldon C.E. Estrogen signaling and the DNA damage response in hormone dependent breast cancers. *Front. Oncol.* 2014;4:106. DOI: 10.3389/fonc.2014.00106.
- Bhardwaj P., Au C.C., Benito-Martin A., Ladumor H., Oshchepkova S., Moges R. et al. Estrogens and breast cancer: Mechanisms involved in obesity-related development, growth and progression. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2019;189:161–170. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2019.03.002.
- Cavaliere E., Chakravarti D., Guttenplan J., Hart E., Ingle J., Jankowiak R. et al. Catechol estrogen quinones as initiators of breast and other human cancers: implications for biomarkers of susceptibility and cancer prevention. *Biochim Biophys Acta.* 2006;1766(1):63–78. DOI: 10.1016/j.bbcan.2006.03.001.
- Yager J.D., Davidson N.E. Estrogen carcinogenesis in breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 2006;354(3):270–282. DOI: 10.1056/NEJMra050776.

Информация о вкладе авторов

Пасенов К.Н. – сбор и обработка материала, литературный обзор публикаций по теме статьи, редактирование.

Пономаренко И.В. – литературный обзор публикаций по теме статьи, написание текста рукописи, статистическая обработка полученного материала, этапное и заключительное редактирование рукописи.

Чурносов М.И. – разработка дизайна исследования, анализ полученных результатов.

Все авторы внесли существенный вклад в подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед подачей рукописи.

Сведения об авторах

Пасенов Константин Николаевич, аспирант, кафедра медико-биологических дисциплин медицинского института, НИУ БелГУ, Белгород, <https://orcid.org/0009-0002-0689-4917>.

E-mail: 944472@bsu.edu.ru.

Пономаренко Ирина Васильевна, д-р мед. наук, доцент, профессор кафедры медико-биологических дисциплин медицинского института, НИУ БелГУ, Белгород, <https://orcid.org/0000-0002-5652-0166>.

E-mail: ponomarenko_i@bsu.edu.ru.

Чурносов Михаил Иванович, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой медико-биологических дисциплин медицинского института, НИУ БелГУ, Белгород, <https://orcid.org/0000-0003-1254-6134>.

E-mail: churnosov@bsu.edu.ru.



Чурносов Михаил Иванович, e-mail: churnosov@bsu.edu.ru.

Information on author contributions

Pasenov K.N. – data collection and processing, literary review of publications on the topic of the article, editing.

Ponomarenko I.V. – literary review of publications on the topic of the article and writing the text of the manuscript, statistical processing of the received material, step-by-step and final editing of the manuscript.

Churnosov M.I. – development of study design, analysis of the obtained results.

All authors significantly contributed to preparing the article and approved the final version of the manuscript for publication.

Information about the authors

Konstantin N. Pasenov, Graduate Student, Department of Biomedical Disciplines of the Medical Institute, Belgorod National Research University, Belgorod, <https://orcid.org/0009-0002-0689-4917>.

E-mail: 944472@bsu.edu.ru

Irina V. Ponomarenko, Dr. Sci. (Med.), Professor, Department of Biomedical Disciplines of the Medical Institute, Belgorod National Research University, Belgorod, <https://orcid.org/0000-0002-5652-0166>.

E-mail: ponomarenko_i@bsu.edu.ru.

Mikhail I. Churnosov, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Medical and Biological Disciplines, Medical Institute, Belgorod National Research University, Belgorod, <https://orcid.org/0000-0003-1254-6134>.

E-mail: churnosov@bsu.edu.ru.



Mikhail I. Churnosov, e-mail: churnosov@bsu.edu.ru.

Поступила 27.10.2023

Received October 27, 2023