

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ДИСБАЛАНС, ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ФЕРМЕНТОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ И РЕЦЕПТОРЫ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ В ОПУХОЛИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Глушков А.Н.¹, Поленок Е.Г.¹, Гордеева Л.А.¹, Мун С.А.¹,
Костянюк М.В.², Антонов А.В.³, Вержбицкая Н.Е.³, Воронина Е.Н.⁴,
Колпинский Г.И.⁵

¹ ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук», г. Кемерово, Россия

² ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», г. Кемерово, Россия

³ ГБУЗ «Кузбасский клинический онкологический диспансер имени М.С. Раппопорта», г. Кемерово, Россия

⁴ ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, Россия

⁵ ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет», г. Кемерово, Россия

Резюме. Известно, что эффективность гормональной терапии рака молочной железы (РМЖ) зависит от наличия в ткани опухоли рецепторов эстрадиола и прогестерона (ER и PR). Экспрессия стероидных рецепторов снижается при прогрессии РМЖ. Механизмы конверсии ER⁺/PR⁺ опухолей молочной железы в ER⁺/PR⁻ и ER⁻/PR⁻ остаются неизвестными. Очевидно, снижение экспрессии стероидных рецепторов зависит от действия генотоксических метаболитов химических канцерогенов окружающей среды (в частности бензо[а]пирена, Bp) и эндогенных стероидных гормонов (в частности эстрадиола, E2), образование которых регулируется ферментами биотрансформации. С другой стороны, образование аддуктов генотоксических метаболитов с ДНК может индуцировать синтез специфических антител. Ранее было показано, что превышение уровней сывороточных антител класса А против Bp и E2 над уровнями антител против прогестерона (IgA-Bp/IgA-Pg > 1 и IgA-E2/IgA-Pg > 1), обозначенное как иммунологический дисбаланс, ассоциировано с высоким риском возникновения РМЖ.

Цель исследования – выявить предполагаемые ассоциации конверсии ER⁺/PR⁺ опухолей в ER⁺/PR⁻ и ER⁻/PR⁻ с иммунологическим дисбалансом у больных РМЖ с различными генетическими вариантами ферментов биотрансформации: *CYP1A1*2A* (rs4646903), *CYP1B1* (rs1056836), *CYP19A1* (rs2470152), *GSTT1* (del), *GSTP1* (rs1695).

Исследование IgA-Bp, IgA-E2 и IgA-Pg в сыворотке крови 1321 некурящей женщины с диагнозом РМЖ проводили с помощью неконкурентного твердофазного иммуоферментного анализа. Конъю-

Адрес для переписки:

Мун Стелла Андреевна
Институт экологии человека
650065, Россия, г. Кемерово, Ленинградский пр., 10.
Тел.: 8 (3842) 57-50-79.
E-mail: stellamun@yandex.ru

Address for correspondence:

Mun Stella A.
Institute of Human Ecology
650065, Russian Federation, Kemerovo,
Leningradsky ave., 10.
Phone: 7 (3842) 57-50-79.
E-mail: stellamun@yandex.ru

Образец цитирования:

А.Н. Глушков, Е.Г. Поленок, Л.А. Гордеева, С.А. Мун, М.В. Костянюк, А.В. Антонов, Н.Е. Вержбицкая, Е.Н. Воронина, Г.И. Колпинский «Имунологический дисбаланс, генетический полиморфизм ферментов биотрансформации и рецепторы стероидных гормонов в опухоли у больных раком молочной железы» // Медицинская иммунология, 2022. Т. 24, № 4. С. 765-778. doi: 10.15789/1563-0625-IIG-2493
© Глушков А.Н. и соавт., 2022

For citation:

A.N. Glushkov, E.G. Polenok, L.A. Gordeeva, S.A. Mun, M.V. Kostyanko, A.V. Antonov, N.E. Verzhbitskaya, E.N. Voronina, G.I. Kolpinskiy "Immunological imbalance, gene polymorphism of biotransformation enzymes, and steroid hormone receptors in tumors in breast cancer patients", *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2022, Vol. 24, no. 4, pp. 765-778. doi: 10.15789/1563-0625-IIG-2493
DOI: 10.15789/1563-0625-IIG-2493

югаты Bp, E2 и Pg с бычьим сывороточным альбумином использовали в качестве адсорбированных на пластике антигенов и меченные пероксидазой хрена козы антитела против IgA — для проявления связавшихся с гаптенами антител. Генетические полиморфизмы ферментов биотрансформации исследовали с помощью ПЦР в режиме реального времени. Наличие в ткани опухоли ER и PR определяли с помощью стандартного иммуно-гистохимического анализа.

У больных РМЖ I стадии (N = 534) ER⁺/PR⁺ опухоли обнаружены в 68,7% случаев, ER⁺/PR⁻ в 15,6%, ER⁻/PR⁻ в 15,7%. У больных II-IV стадий (N = 787) частота ER⁺/PR⁺ опухолей снижалась до 60,2%, частота ER⁺/PR⁻ не изменялась (15,8%), частота ER⁻/PR⁻ возрастала до 24,0% (p < 0,0001). Такие изменения статуса стероидных рецепторов имели место только у больных с высокими значениями индивидуальных соотношений IgA-Bp/IgA-Pg > 1 и IgA-E2/IgA-Pg > 1 (p < 0,001). У больных с низкими значениями указанных соотношений не было разницы между I и II-IV стадиями по удельному весу ER⁺/PR⁺, ER⁺/PR⁻ и ER⁻/PR⁻ (p = 0,28).

У гомозигот TT *CYP19A1* частота ER⁺/PR⁺ опухолей при I стадии была выше (77,1%), чем при II-IV стадиях (60,1%). Соответственно у больных II-IV стадий повышалась частота ER⁻/PR⁻ опухолей (с 11,8% до 26,1%, p < 0,001). У носителей генотипа *GSTT1* «+» ER⁺/PR⁺ опухоли обнаружены в 68,7% при I стадии и в 58,6% при II-IV стадиях, соответственно ER⁻/PR⁻ обнаружены в 16,6% и в 24,5% случаев (p < 0,004). У гомозигот GG *GSTP1* ER⁺/PR⁺ опухоли обнаружены в 57,1% при I стадии и в 60,7% при II-IV стадиях, частота ER⁺/PR⁻ опухолей была ниже (14,3% против 20,2%), а ER⁻/PR⁻ — выше (28,6% против 19,0%, p < 0,001). Удельный вес низких или высоких значений соотношений IgA-Bp/IgA-Pg и IgA-E2/IgA-Pg был одинаковым при любом генотипе исследованных генов.

Таким образом, конверсия стероидных рецепторов опухоли у больных РМЖ независимо ассоциирована с иммунологическим дисбалансом и с полиморфизмом некоторых генов ферментов биотрансформации.

Ключевые слова: рак молочной железы, антитела, бензо[а]пирен, эстрадиол, прогестерон, CYP, GST

IMMUNOLOGICAL IMBALANCE, GENE POLYMORPHISM OF BIOTRANSFORMATION ENZYMES, AND STEROID HORMONE RECEPTORS IN TUMORS IN BREAST CANCER PATIENTS

Glushkov A.N.^a, Polenok E.G.^a, Gordeeva L.A.^a, Mun S.A.^a,
Kostyanko M.V.^b, Antonov A.V.^c, Verzhbitskaya N.E.^c, Voronina E.N.^d,
Kolpinskiy G.I.^e

^a Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Kemerovo, Russian Federation

^b Kemerovo State University, Kemerovo, Russian Federation

^c Kuzbass Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russian Federation

^d Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

^e Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russian Federation

Abstract. It is well known that results of breast cancer (BC) hormonal therapy depend on expression of tumor estradiol and progesterone receptors (ER and PR) in tumor tissue. Mechanisms of ER⁺/PR⁺ tumors conversion to ER⁺/PR⁻ and ER⁻/PR⁻ tumors remain scarcely studied. The decrease of steroid receptors expression seems to depend on action of genotoxic metabolites of environmental carcinogens (particularly, benzo[a]pyrene, BP) and endogenous steroids (in particular, estradiol, E2). The formation of these metabolites is regulated by the biotransformation enzymes. On the other hand, the formation of DNA-adducts with genotoxic metabolites may induce the synthesis of specific antibodies. Previously, it was shown that increase of the serum IgA-antibodies levels against Bp and E2 over the levels of IgA-antibodies against progesterone (IgA-Bp/IgA-Pg > 1 and IgA-E2/IgA-Pg), could be interpreted as immunological imbalance associated with high BC risk in healthy women. The purpose of this study was to detect the suggested associations between ER⁺/PR⁺ tumors conversion

to ER⁺/PR⁺ and ER⁻/PR⁻ tumors and immunological imbalance in the BC patients with distinct gene variants of biotransformation enzymes: *CYP1A1*2A* (rs 4646903), *CYP1B1* (rs1056836), *CYP19A1* (rs2470152), *GSTT1* (*del*), *GSTP1* (rs1695). The IgA-Bp, IgA-E2 and IgA-Pg were studied in 1321 non-smoking BC patients by non-competitive solid phase immunoassay. The conjugates of Bp, E2 and Pg with bovine serum albumin were adsorbed as target antibodies. The goat antibodies against human IgA conjugated with horseradish peroxidase were used for detection of the studied specific antibodies. Gene polymorphisms of biotransformation enzymes were analyzed by the real-time PCR. Tumor ER and PR were detected by the standard immunohistochemical methods.

ER⁺/PR⁺ tumors in BC patients at the stage I (N = 534) were found in 68.7%, ER⁺/PR⁻ in 15.6%, ER⁻/PR⁻ in 15.7%. In BC patients at the II-IV stage (N = 787), frequency of ER⁺/PR⁺ tumors decreased to 60.2%, ER⁺/PR⁻ was similar (15.8%), and ER⁻/PR⁻ increased to 24.0% (p < 0.0001). These alterations were revealed in BC patients at the IgA-Bp/IgA-Pg ratios > 1, and IgA-E2/IgA-Pg > 1 only. There were no differences found between BC patients at stage I and II-IV at the ER⁺/PR⁺, ER⁺/PR⁻, ER⁻/PR⁻ frequencies when these ratios were low.

The frequency of ER⁺/PR⁺ tumors in homozygotes TT of *CYP19A1* was 77.1% at the I stage and 60.1% at the II-IV stages. Respectively the frequencies of ER⁻/PR⁻ tumors were 11.8% and 26.1% (p < 0.001). ER⁺/PR⁺ tumors were revealed in *GSTT1* “+” BC patients at the I stage in 68.7% and at the II-IV stages in 58.0%. Respectively ER⁻/PR⁻ tumors were found in 16.6% and 24.5% (p < 0.0004). The frequency of ER⁺/PR⁺ tumors was 57.1% in homozygotes GG of *GSTP1* at the I stage and 60.7% at the II-IV stages. Respectively the frequencies of ER⁺/PR⁻ were 14.3% and 22.2% and ER⁻/PR⁻ were 28.6% and 19.0% (p < 0.001). Proportions of low and high IgA-Bp/IgA-Pg and IgA-E2/IgA-Pg ratios were the same at the any enzyme genotype of studied *CYP* or *GST* variants. In conclusion, we have revealed a sufficient contribution of immunological imbalance to the conversion of steroid receptors in breast cancer growth, being independent of several *CYP* and *GST* gene polymorphisms.

Keywords: breast cancer, antibodies, benzo[a]pyrene, estradiol, progesterone, CYP, GST

Работа выполнена в рамках проекта VI.59.1.1 Программы фундаментальных научных исследований СО РАН (гос. задание № 0286-2022-0008).

Введение

Самой распространенной онкопатологией у женщин в мире и в России является рак молочной железы (РМЖ) [4, 20]. Эффективность комплексного лечения РМЖ зависит в том числе от наличия в опухоли рецепторов эстрогенов и прогестерона (ER и PR). Прогноз заболевания ухудшается при конверсии ER⁺ и PR⁺ опухолей в ER⁻ и PR⁻ в процессе прогрессии РМЖ [5, 12, 23]. Механизмы прекращения или снижения экспрессии стероидных рецепторов клетками опухоли остаются неизвестными.

Очевидно, это происходит вследствие генотоксического действия реактивных метаболитов химических канцерогенов окружающей среды и эндогенных стероидных гормонов. Метаболиты бензо[а]пирена (Bp) и эстрадиола (E2) образуют аддукты с ДНК, которые обнаружены в клетках опухоли и в крови у больных РМЖ [6, 10, 17, 22]. Поскольку образование аддуктов взаимосвязано с активностью ферментов биотрансформации [9, 15, 18, 21], можно предположить наличие ассоциаций между полиморфными вариантами генов ферментов биотрансформации и экспрессией стероидных рецепторов при росте РМЖ. Однако

такие взаимосвязи до сих пор не были исследованы.

С другой стороны, химические канцерогены и стероидные гормоны, будучи гаптенами в составе макромолекулярных аддуктов, индуцируют синтез специфических антител. Ранее было обнаружено, что превышение уровней сывороточных антител класса А, специфичных к Bp и E2, над уровнями антител к прогестерону (Pg) ассоциировано с высоким риском возникновения РМЖ у женщин [1]. У больных РМЖ с таким иммунологическим дисбалансом (IgA-Bp/IgA-Pg > 1 и IgA-E2/IgA-Pg > 1) имело место снижение количества ER⁺ и PR⁺ опухолей при II-IV стадиях по сравнению с опухолями I стадии и соответствующее увеличение количества ER⁻ и PR⁻ опухолей [2]. Однако при этом изменение ER и PR в процессе роста опухоли рассматривалось по отдельности, в то время как большое значение имеет их одновременная экспрессия и ее нарушения.

Вместе с тем не были исследованы особенности баланса между IgA-Bp и IgA-E2 с IgA-Pg, а также нарушения экспрессии стероидных рецепторов при росте опухолей у больных РМЖ с генетическим полиморфизмом ферментов биотрансформации химических канцерогенов окружающей среды и эндогенных стероидных гормонов.

Цель настоящей работы – выявить предполагаемые ассоциации конверсии ER⁺/PR⁺ опухолей в ER⁺/PR⁻ и ER⁻/PR⁻ с иммунологическим дисбалансом у больных РМЖ с разными генетическими вариантами ферментов биотрансформации (*CYP1A1*2A* (rs4646903), *CYP1B1* (rs1056836), *CYP19A1* (rs2470152), *GSTP1* (rs1695), *GSTT1* (*del*)).

Материалы и методы

В настоящем исследовании приняли участие 1321 некурящая женщина в постменопаузе. Все женщины с первично выявленным диагнозом «инвазивная карцинома молочной железы» поступили на лечение в Кузбасский клинический онкологический диспансер г. Кемерово. Диагноз РМЖ в каждом случае был подтвержден гистологически. Информация о наличии эстрогеновых и прогестероновых рецепторов в опухоли (ER^{+/+}, PR^{+/+}) у больных РМЖ была взята из протоколов патологоанатомического отделения. В зависимости от рецепторного статуса опухоли были выделены 3 подгруппы больных РМЖ: женщины с ER⁺/PR⁺ опухолями (n = 841), женщины с ER⁺/PR⁻ опухолями (n = 207) и женщины с ER⁻/PR⁻ опухолями (n = 273). У большинства женщин была выявлена I и II стадии заболевания (40,4% и 42,0%), III+IV стадии составили 17,6%. Медиана возраста всех женщин с РМЖ составила 63 года (интерквартильный размах 58–69).

Периферическую кровь для исследования забирали согласно этическим стандартам в соответствии с Хельсинкской декларацией 1975 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003 г. Все женщины дали информированное письменное согласие на участие в исследовании. Образцы сыворотки крови женщин забирались в аликвоты и хранились при -70 °С.

Исследование IgA-антител, специфичных к Bp, E2 и Pg, проводили с помощью неконкурентного иммуноферментного анализа согласно методике, описанной в работе [1]. Уровень IgA-антител к исследуемым гаптенам выражали в относительных единицах и вычисляли по формуле:

$$\text{IgA-X} = (\text{OD}_{\text{X-BCA}} - \text{OD}_{\text{BCA}}) / \text{OD}_{\text{BCA}},$$

где X = Bp, E2, Pg; BCA – бычий сывороточный альбумин, OD_{X-BCA} – связывание антител с конъюгатом гаптен-BCA, OD_{BCA} – фоновое связывание антител с BCA.

Генотипирование

Образцы ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови с помощью метода фенол – хлороформной экстракции с последующим осаждением этанолом, образцы ДНК хранили при -20 °С.

Типирование гена *GSTT1*(*del*) проводили мультиплексной Real-time ПЦР с флуоресцентной детекцией и анализом кривых плавления (табл. 1). Олигонуклеотидные праймеры для ПЦР были выбраны внутри области делеции в гене *GSTT1* таким образом, что обуславливало отсутствие синтеза соответствующего продукта ПЦР при анализе образцов ДНК с генотипом *GSTT1* «0/0» соответственно. Для того чтобы отличить наличие гомозиготной делеции в гене *GSTT1* от отсутствия ДНК матрицы или ингибирования реакции ПЦР, в амплификационную смесь вводили праймеры для амплификации короткого легкоплавкого А/Т-богатого фрагмента ДНК (*LTM* – low temperature melting).

Размеры амплифицируемых фрагментов: *GSTT1* – 287 пар оснований, *LTM* – 127 пар оснований, расчетная температура отжига всех праймеров составляет 64–66 °С, ожидаемая температура плавления продуктов амплификации составляет *GSTT1* – 92,5 °С, *LTM* – 78,5 °С.

ПЦР проводилась в смеси, содержащей следующие компоненты: 65 mM Tris-HCl (pH = 8,9); 0,05% Tween 20; 16 mM (NH₄)₂SO₄; 2,4 mM MgCl₂; 0,2 mM dNTP, 0,3 мкМ растворы олигонуклеотидных праймеров; 0,8X SYBR GreenI; 20–100 нг матрицы ДНК; 0,5 единиц активности термостабильной Taq-полимеразы. Объем реакционной смеси составлял 20 мкл.

Отсутствие флуоресцентного сигнала указывало на гомозиготность индивидуума по делеции гена *GSTT1* – «0/0». Гетерозиготы по мутации (генотип «+/0») рассматривались в одной группе с носителями нормальных генов («+»).

Типирование полиморфных локусов *CYP1A1*2A* (3801 T > C, rs4646903), *CYP1B1* (Leu432Val, rs1056836), *CYP19A1* (c.-39+15658 C > T, rs2470152), *GSTP1* (He105Val, rs1695) проводили методом Real-time ПЦР с использованием технологии конкурирующих TaqMan-зондов. Реакции амплификации проводили с помощью амплификатора CFX-96 (Bio-Rad, США). Каждый образец амплифицировался с использованием пары специфических праймеров и двух зондов (табл. 1), несущих «гаситель» на 3'-конце и флуоресцентных красителей (FAM и R6G) на 5'-конце. Результаты интерпретировали исходя из анализа графиков накопления флуоресценции. Общий объем реакционной смеси составлял 20 мкл, смесь содержала 40–100 нг ДНК; 300 нМ каждого праймера; по 100–200 нМ Taqman-зондов, конъюгированных с FAM или R6G; 200 мкМ-ные dNTP, амплификационный буфер, термостабильную Taq-полимеразу – 0,5 ед. акт./реакц.

Распределение частот генотипов генов *CYP* и *GSTP1* у исследуемых женщин соответствовало

ТАБЛИЦА 1. ПРАЙМЕРЫ И ЗОНДЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НУКЛЕОТИДНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ CYP И GSTP1

TABLE 1. PRIMERS AND PROBES FOR DETERMINING THE NUCLEOTIDE SEQUENCE OF CYP AND GSTP1 GENE POLYMORPHISMS

Гены Genes	Праймеры Primers	Последовательность праймеров Primers sequence	Последовательность зондов Probes sequence
CYP1A1*2A (rs4646903)	direct	5'-AGTGAGAAGGTGATTATCTTTGG-3'	5'-FAM-TGAGACCATTGCCCGCTG-BHQ-3'
	reverse	5'-AGCAGGATAGCCAGGAAGAG-3'	5'-R6G-TGAGACCGTTGCCCGCTG-BHQ-3'
CYP1B1 (rs1056836)	direct	5'-GCTACCACATTCCCAAGG-3'	5'-FAM-CATGACCCACTGAAGTGGC-BHQ-3'
	reverse	5'-TTAGAAAGTTCTTCGCCAATG-3'	5'-HEX-CATGACCCAGTGAAGTGGC-BHQ-3'
CYP19A1 (rs2470152)	direct	5'-GGCAATTTCAAGGGTTGTG-3'	5'-FAM-CCAGCCCACATCTTTCTCTC-BHQ-3'
	reverse	5'ATGCGACCTCCTCTGGCAG-3'	5'-R6G-CCAGCCCACGCTTTCTCTC-BHQ-3'
GSTP1 (rs1695)	direct	5'-GATGCTCACATAGTTGGTGTAG-3'	5'-FAM-CTGCAAATACATCTCCCTCAT-BHQ-3'
	reverse	5'-GGTGGACATGGTGAATGAC-3'	5'-R6G-CTGCAAATACGCTCCCTCAT-BHQ-3'
GSTT (del)	direct	5'GCTAGTTGCTGAAGTCCTGCTTA3'	—
	reverse	5'CTTGGCCTTCAGAATGACCT3'	—
LTM	direct	5'TGGGTGCTAGAGGTATAATCG3'	—
	reverse	5'TTAGAGGAAGCTGGGTAAGAG3'	—

ожидаемым согласно равновесию Харди–Вайнберга ($p > 0,05$).

Статистический анализ полученных результатов проводился с помощью пакета статистических программ Statistica 8.0, (StatSoft Inc., США). Соответствие частот генотипов изучаемых генов равновесию Харди–Вайнберга (HWE) оценивали с помощью критерия χ^2 Пирсона. Нулевую гипотезу отвергали при $p < 0,05$. Характер распределения количественных признаков определяли с помощью критерия Шапиро–Уилка и в дальнейшем статистически значимые различия между группами выявляли с помощью непараметрического критерия χ^2 с поправкой Йейтса (Yates) на непрерывность вариации. За критический уровень значимости принималось значение $p < 0,05$. Для определения пороговых значений соотношений уровней антител (cut-off) был использован ROC-анализ [11].

Результаты

Исследование конверсии ER⁺/PR⁺ опухолей в ER⁺/PR⁻ и ER⁻/PR⁻ в процессе роста РМЖ показало следующее (табл. 2).

Удельный вес больных РМЖ с ER⁺/PR⁻ опухолями снижался с 68,7% при I стадии до 62,2% и 55,6% при II и III-IV стадиях. Удельный вес больных РМЖ с ER⁺/PR⁻ опухолями при I и II стадиях (15,6% и 14,1%) повышался к III-IV стадиях (19,8%). Соответствующий рост удельного числа больных от 15,7% до 23,7% и 24,6% имел место в

случае с ER⁻/PR⁻ опухолями. Обнаруженная разница в числе опухолей с разным статусом стероидных рецепторов между больными I, II и III-IV стадиями опухолевого процесса оказалась статистически значимой ($p < 0,0001$).

Дальнейшие исследования искомым ассоциаций выполняли, объединив больных РМЖ со II и III-IV стадиями процесса, учитывая незначительные различия между ними с ER⁻/PR⁻ опухолями и относительно небольшое количество больных с ER⁺/PR⁻ опухолями.

С помощью ROC-анализа были рассчитаны пороговые значения (cut-off) индивидуальных соотношений уровней антител: IgA-Bp/IgA-Pg = 1, IgA-E2/IgA-Pg = 1. В таблице 3 представлены результаты сопоставления больных РМЖ с опухолями I и III-IV стадий и различным статусом стероидных рецепторов в зависимости от низких и высоких индивидуальных соотношений IgA-антител, специфичных к Bp, E2 и Pg. У больных с превышением уровня IgA-Pg над уровнем IgA-Bp (IgA-Bp/IgA-Pg \leq 1) не выявлено различий между I и III-IV стадиями по распределению ER⁺/PR⁺, ER⁺/PR⁻ и ER⁻/PR⁻ опухолей ($p = 0,285$).

Напротив, удельный вес больных с ER⁺/PR⁺ опухолями при III-IV стадиях (59,8%) был ниже, чем при I стадии (72,3%), когда уровни IgA-Bp превышали уровни IgA-Pg (IgA-Bp/IgA-Pg $>$ 1). Соответственно, повышался удельный вес больных с ER⁺/PR⁻ опухолями (15,8% против 13,2%) и с ER⁻/PR⁻ опухолями (24,4% против 14,5%). Уста-

ТАБЛИЦА 2. ЧИСЛО (n) И УДЕЛЬНЫЙ ВЕС (%) БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (РМЖ) С ER⁺/PR⁺, ER⁺/PR⁻ И ER⁻/PR⁻ ОПУХОЛЯМИ ПРИ I, II И III-IV СТАДИЯХ ЗАБОЛЕВАНИЯ

TABLE 2. CASES NUMBERS (n) AND FREQUENCIES (%) OF BREAST CANCER PATIENTS (BCP) WITH ER⁺/PR⁺, ER⁺/PR⁻ AND ER⁻/PR⁻ TUMORS AT THE I, II AND III-IV STAGES

Стадии Stages	РМЖ BCP ER ⁺ /PR ⁺	РМЖ BCP ER ⁺ /PR ⁻	РМЖ BCP ER ⁻ /PR ⁻
	n/%	n/%	n/%
I	367,0/68,7	83,0/15,6	84,0/15,7
II	345,0/62,2	78,0/14,1	132,0/23,7
III-IV	129,0/55,6	46,0/19,8	57,0/24,6
χ^2 (p), df = 4	18,800 (< 0,001)		

ТАБЛИЦА 3. ЧИСЛО (n) И УДЕЛЬНЫЙ ВЕС (%) БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ER⁺/PR⁺, ER⁺/PR⁻ И ER⁻/PR⁻ ОПУХОЛЯМИ ПРИ I И II-IV СТАДИЯХ С НИЗКИМИ (≤ 1) И ВЫСОКИМИ (> 1) ЗНАЧЕНИЯМИ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ СООТНОШЕНИЙ ИССЛЕДУЕМЫХ АНТИТЕЛ (IgA-Bp/IgA-Pg И IgA-E2/IgA-Pg)

TABLE 3. CASES NUMBERS (n) AND FREQUENCIES (%) OF BREAST CANCER PATIENTS WITH ER⁺/PR⁺, ER⁺/PR⁻ AND ER⁻/PR⁻ TUMORS AT THE I AND II-IV STAGES WITH LOW (≤ 1) AND HIGH (> 1) STUDIED ANTIBODIES RATIOS (IgA-Bp/IgA-Pg И IgA-E2/IgA-Pg)

Соотношения антител Antibodies ratios	I стадия I stage N = 534			II-IV стадии II-IV stages N = 787			χ^2 (p), df = 2
	ER ⁺ /PR ⁺	ER ⁺ /PR ⁻	ER ⁻ /PR ⁻	ER ⁺ /PR ⁺	ER ⁺ /PR ⁻	ER ⁻ /PR ⁻	
	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	
1.1. IgA-Bp/IgA-Pg ≤ 1	77,0/57,9	30,0/22,6	26,0/19,5	114,0/61,6	29,0/15,7	42,0/22,7	2,510 (0,285)
1.2. IgA-Bp/IgA-Pg > 1	290,0/72,3	53,0/13,2	58,0/14,5	360,0/59,8	95,0/15,8	147,0/24,4	18,560 ($< 0,001$)
χ^2 (p), df = 2	10,270 (0,006)			0,250 (0,882)			
2.1. IgA-E2/IgA-Pg ≤ 1	91,0/64,1	22,0/15,5	29,0/20,4	130,0/63,4	33,0/16,1	42,0/20,5	0,030 (0,988)
2.2. IgA-E2/IgA-Pg > 1	276,0/70,4	61,0/15,6	55,0/14,0	344,0/59,1	91,0/15,6	147,0/25,3	18,940 ($< 0,001$)
χ^2 (p), df = 2	3,310 (0,191)			1,920 (0,383)			

новленные различия оказались высоко значимыми статистически ($p < 0,001$).

Между пациентками с низким (≤ 1) и высоким (> 1) соотношением IgA-Bp/IgA-Pg при I стадии РМЖ обнаружены статистически значимые различия ($p = 0,006$) в распределении опухолей по статусу стероидных рецепторов. Удельный вес больных с ER⁺/PR⁺ опухолями у больных с IgA-Bp/IgA-Pg ≤ 1 оказался ниже, чем у больных с IgA-Bp/IgA-Pg > 1 (57,9 против 72,3%), в то время как удельный вес больных с опухолями ER⁺/PR⁻ и ER⁻/PR⁻ (22,6% и 19,5%) был выше (против 13,2% и 14,5% соответственно).

Аналогичные особенности распределения больных РМЖ I и II-IV стадий по статусу стероидных рецепторов в опухоли выявлены в зависимости от индивидуальных соотношений IgA-E2/IgA-Pg. При низких значениях (≤ 1) разницы между ними не было ($p = 0,988$). При высоких значениях (> 1) удельный вес больных с ER⁺/PR⁺ опухолями при II-IV стадиях оказался ниже (59,1%), чем при I стадии (70,4%). Удельный вес больных с ER⁺/PR⁻ опухолями не имел различий (15,6%), зато значительно возросло удельное количество больных с ER⁻/PR⁻ опухолями: с 14,0% при I стадии до 25,3% при II-IV стадиях ($p < 0,001$). Не об-

ТАБЛИЦА 4. ЧИСЛО (n) И УДЕЛЬНЫЙ ВЕС (%) БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ER⁺/PR⁺, ER⁺/PR⁻ И ER⁻/PR⁻ ОПУХОЛЯМИ ПРИ I И II-IV СТАДИЯХ С РАЗЛИЧНЫМИ ГЕНОТИПАМИ ФЕРМЕНТОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ

TABLE 4. CASES NUMBERS (n) AND FREQUENCIES (%) OF BREAST CANCER PATIENTS WITH ER⁺/PR⁺, ER⁺/PR⁻ AND ER⁻/PR⁻ TUMORS AT THE I AND II-IV STAGES WITH DIFFERENT GENOTYPES OF BIOTRANSFORMATION ENZYMES

Гены, генотипы Genes, genotypes	I стадия I stage			II-IV стадии II-IV stages			χ^2 (p), df = 2
	ER ⁺ /PR ⁺	ER ⁺ /PR ⁻	ER ⁻ /PR ⁻	ER ⁺ /PR ⁺	ER ⁺ /PR ⁻	ER ⁻ /PR ⁻	
	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	
CYP1A1*2A (rs4646903)							
CC	0,0/0,0	0,0/0,0	0,0/0,0	4,0/80,0	0,0/0,0	1,0/20,0	-
TC	30,0/68,2	10,0/22,7	4,0/9,1	29,0/61,7	8,0/17,0	10,0/21,3	2,720 (0,258)
TT	337,0/68,8	73,0/14,9	80,0/16,3	441,0/60,0	116,0/15,8	178,0/24,2	12,410 (0,003)
χ^2 (p), df = 4	2,940 (0,231)			0,220 (0,895)			
CYP1B1 (rs1056836)							
CC	122,0/64,2	37,0/19,5	31,0/16,3	179,0/60,3	45,0/15,2	73,0/24,6	5,280 (0,072)
CG	183,0/70,7	35,0/13,5	41,0/15,8	227,0/62,2	55,0/15,1	83,0/22,7	5,550 (0,063)
GG	62,0/72,9	11,0/12,9	12,0/14,1	68,0/54,4	24,0/19,2	33,0/26,4	7,560 (0,023)
χ^2 (p), df = 4	4,050 (0,399)			2,640 (0,620)			
CYP19A1 (rs2470152)							
CC	67,0/62,0	19,0/17,6	22,0/20,4	90,0/61,2	22,0/15,0	35,0/23,8	0,600 (0,740)
CT	182,0/66,7	47,0/17,2	44,0/16,1	214,0/59,9	63,0/17,6	80,0/22,4	4,240 (0,121)
TT	118,0/77,1	17,0/11,1	18,0/11,8	170,0/60,1	39,0/13,8	74,0/26,1	14,660 (< 0,001)
χ^2 (p), df = 4	8,190 (0,085)			2,520 (0,641)			
GSTT1(del)							
«0/0»	69,0/69,0	19,0/19,0	12,0/12,0	88,0/63,3	21,0/15,1	30,0/21,6	3,850 (0,146)
«+»	298,0/68,7	64,0/14,7	72,0/16,6	386,0/59,6	103,0/15,9	159,0/24,5	11,310 (0,004)
χ^2 (p), df = 2	2,040 (0,362)			0,730 (0,696)			
GSTP1 (rs1695)							
AA	170,0/69,4	39,0/15,9	36,0/14,7	223,0/61,6	57,0/15,7	82,0/22,7	6,130 (0,047)
AG	169,0/70,4	37,0/15,4	34,0/14,2	200,0/58,7	50,0/14,7	91,0/26,7	13,390 (0,002)
GG	28,0/57,1	7,0/14,3	14,0/28,6	51,0/60,7	17,0/20,2	16,0/19,0	19,250 (< 0,001)
χ^2 (p), df = 4	6,820 (0,146)			3,740 (0,442)			

наружено различий между пациентками с низкими и высокими соотношениями IgA-E2/IgA-Pg в распределении опухолей по статусу стероидных рецепторов при I стадии заболевания (p = 0,191) в отличие от выше описанной разницы по соотношению IgA-Bp/IgA-Pg.

Результаты анализа взаимосвязей полиморфных вариантов генов ферментов биотрансформации с реверсией стероидных рецепторов опухоли у больных РМЖ представлены в таблице 4.

Снижение удельного количества ER⁺/PR⁺ опухолей у больных II-IV стадиями по сравнению

ТАБЛИЦА 5. ЧИСЛО (n) И УДЕЛЬНЫЙ ВЕС (%) БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ I И II-IV СТАДИЙ С НИЗКИМИ (≤ 1) И ВЫСОКИМИ (> 1) IgA-Bp/IgA-Pg ИНДИВИДУАЛЬНЫМИ СООТНОШЕНИЯМИ И ОТДЕЛЬНЫМИ ГЕНОТИПАМИ ФЕРМЕНТОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ

TABLE 5. CASES NUMBERS (n) AND FREQUENCIES (%) OF BREAST CANCER PATIENTS I AND II-IV STAGES WITH LOW (≤ 1) AND HIGH (> 1) PERSONAL IgA-Bp/IgA-Pg RATIOS AND DIFFERENT GENOTYPES OF BIOTRANSFORMATION ENZYMES

Гены, генотипы Genes, genotypes	I стадия I stage		II-IV стадии II-IV stages		χ^2 (p)
	IgA-Bp/IgA-Pg ≤ 1	IgA-Bp/IgA-Pg > 1	IgA-Bp/IgA-Pg ≤ 1	IgA-Bp/IgA-Pg > 1	
	n/%	n/%	n/%	n/%	
CYP1A1*2A (rs4646903)					
CC	0,0/0,0	0,0/0,0	2,0/40,0	3,0/60,0	-
TC	11,0/25,0	33,0/75,0	14,0/29,8	33,0/70,2	0,080 (0,783)
TT	122,0/24,9	368,0/75,1	169,0/23,0	566,0/77,0	0,490 (0,485)
χ^2 (p), df = 2	-		1,890 (0,388)		
CYP1B1 (rs1056836)					
CC	49,0/25,8	141,0/74,2	64,0/21,5	233,0/78,5	0,940 (0,332)
CG	61,0/23,6	198,0/76,4	93,0/25,5	272,0/74,5	0,210 (0,649)
GG	23,0/27,1	62,0/72,9	28,0/22,4	97,0/77,6	0,370 (0,543)
χ^2 (p), df = 2	0,540 (0,762)		1,510 (0,471)		
CYP19A1 (rs2470152)					
CC	27,0/25,0	81,0/75,0	34,0/23,1	113,0/76,9	0,040 (0,844)
CT	76,0/27,8	197,0/72,2	88,0/24,6	269,0/75,4	0,660 (0,417)
TT	30,0/19,6	123,0/80,4	63,0/22,3	220,0/77,7	0,270 (0,601)
χ^2 (p), df = 2	3,550 (0,170)		0,520 (0,773)		
GSTT1(del)					
«0/0»	27,0/27,0	73,0/73,0	24,0/17,3	115,0/82,7	2,730 (0,099)
«+»	106,0/24,4	328,0/75,6	161,0/24,8	487,0/75,2	0,010 (0,932)
χ^2 (p)	0,170 (0,683)		3,250 (0,072)		
GSTP1 (rs1695)					
AA	55,0/22,4	190,0/77,6	92,0/25,4	270,0/74,6	0,550 (0,460)
AG	64,0/26,7	176,0/73,3	81,0/23,8	260,0/76,2	0,490 (0,483)
GG	14,0/28,6	35,0/71,4	12,0/14,3	72,0/85,7	3,160 (0,076)
χ^2 (p), df = 2	1,540 (0,463)		4,720 (0,095)		

ТАБЛИЦА 6. ЧИСЛО (n) И УДЕЛЬНЫЙ ВЕС (%) БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ I И II-IV СТАДИЙ С НИЗКИМИ (≤ 1) И ВЫСОКИМИ (> 1) IgA-E2/IgA-Pg ИНДИВИДУАЛЬНЫМИ СООТНОШЕНИЯМИ И ОТДЕЛЬНЫМИ ГЕНОТИПАМИ ФЕРМЕНТОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ

TABLE 6. CASES NUMBERS (n) AND FREQUENCIES (%) OF BREAST CANCER PATIENTS I AND II-IV STAGES WITH LOW (≤ 1) AND HIGH (> 1) PERSONAL IgA-E2/IgA-Pg RATIOS AND DIFFERENT GENOTYPES OF BIOTRANSFORMATION ENZYMES

Гены, генотипы Genes, genotypes	I стадия I stage		II-IV стадии II-IV stages		χ^2 (p), df = 1
	IgA-E2/IgA-Pg ≤ 1	IgA-E2/IgA-Pg > 1	IgA-E2/IgA-Pg ≤ 1	IgA-E2/IgA-Pg > 1	
	n/%	n/%	n/%	n/%	
CYP1A1*2A (rs4646903)					
CC	0,0/0,0	0,0/0,0	1,0/20,0	4,0/80,0	-
TC	14,0/31,8	30,0/68,2	13,0/27,7	34,0/72,3	0,040 (0,839)
TT	128,0/26,1	362,0/73,9	191,0/26,0	544,0/74,0	0,000 (0,990)
χ^2 (p), df = 2	-		0,160 (0,924)		
CYP1B1 (rs1056836)					
CC	50,0/26,3	140,0/73,7	79,0/26,6	218,0/73,4	0,001 (0,972)
CG	73,0/28,2	186,0/71,8	97,0/26,6	268,0/73,4	0,130 (0,724)
GG	19,0/22,4	66,0/77,6	29,0/23,2	96,0/76,8	0,001 (0,981)
χ^2 (p), df = 2	1,130 (0,570)		0,630 (0,732)		
CYP19A1 (rs2470152)					
CC	29,0/26,9	79,0/73,1	32,0/21,8	115,0/78,2	0,630 (0,429)
CT	75,0/27,5	198,0/72,5	103,0/28,9	254,0/71,1	0,090 (0,771)
TT	38,0/24,8	115,0/75,2	70,0/24,7	213,0/75,3	0,010 (0,927)
χ^2 (p), df = 2	0,350 (0,838)		3,110 (0,212)		
GSTT1(del)					
«0/0»	27,0/27,0	73,0/73,0	38,0/27,3	101,0/72,7	0,010 (0,929)
«+»	115,0/26,5	319,0/73,5	167,0/25,8	481,0/74,2	0,040 (0,845)
χ^2 (p), df = 1	0,001 (0,982)		0,080 (0,784)		
GSTP1 (rs1695)					
AA	60,0/24,5	185,0/75,5	95,0/26,2	267,0/73,8	0,150 (0,696)
AG	66,0/27,5	174,0/72,5	91,0/26,7	250,0/73,3	0,150 (0,903)
GG	16,0/32,7	33,0/67,3	19,0/22,6	65,0/77,4	1,130 (0,288)
χ^2 (p), df = 2	1,580 (0,455)		0,590 (0,744)		

с I стадией и соответствующее увеличение ER⁻/PR⁻ опухолей имело место при TC и TT вариантах гена *CYP1A1*2A*, статистически достоверное только у гомозигот TT ($p = 0,003$).

Аналогичные ассоциации обнаружены при анализе вариантов гена *CYP1B1*, наиболее значимые для гомозиготного генотипа GG ($p = 0,023$).

У носителей гетерозиготного CT и гомозиготного TT генотипов гена *CYP19A1* также снижалось удельное количество ER⁺/PR⁺ опухолей и повышалось количество ER⁻/PR⁻ опухолей, наиболее значимое для людей с генотипом TT ($p < 0,001$). При этом у больных с генотипом CC разница между I и II-IV стадиями процесса по удельному весу ER⁺/PR⁺, ER⁺/PR⁻ и ER⁻/PR⁻ опухолей не превышала 1-3%.

Наличие генотипа *GSTT1*«+» было ассоциировано со значительным и статистически значимым снижением удельного количества ER⁺/PR⁺ опухолей и увеличением ER⁻/PR⁻ опухолей ($p = 0,004$), в то время как при делеционном генотипе *GSTT1* (0/0) разница между I и II-IV стадиями болезни по статусу стероидных рецепторов была статистически недостоверной.

У носителей гомозиготного AA и гетерозиготного AG генотипов гена *GSTP1* также имело место снижение удельного веса ER⁺/PR⁺ опухолей и соответствующее повышение ER⁻/PR⁻ опухолей при II-IV стадиях болезни по сравнению с I стадией ($p = 0,047$ и $p = 0,002$ соответственно). В то же время у больных с генотипом GG гена *GSTP1* разница по удельному количеству ER⁺/PR⁺ опухолей оказалось незначительной. При этом существенно возрастало удельное количество ER⁺/PR⁻ опухолей и снижалось количество ER⁻/PR⁻ опухолей ($p < 0,001$).

Анализ распределения больных РМЖ с низкими (≤ 1) и высокими (> 1) соотношениями IgA-Vp/IgA-Pg при отдельных генотипах исследуемых генов ферментов биотрансформации показал отсутствие предполагаемых взаимосвязей (табл. 5). Как у пациенток с I стадией заболевания, так и при II-IV стадиях, частота обнаружения низких и высоких соотношений IgA-Vp/IgA-Pg не имела значимых различий в зависимости от полиморфных локусов генов *CYP1A1*2A*, *CYP1B1*, *CYP19A1*, *GSTT1* и *GSTP1* ($p > 0,05$). Также не обнаружили различий по частоте выявления указанных соотношений при каждом исследуемом генотипе между больными с опухолями I и II-IV стадий ($p > 0,05$).

Аналогичное отсутствие искомым взаимосвязей полиморфных вариантов генов ферментов биотрансформации с индивидуальными соотношениями IgA-E2/IgA-Pg продемонстрировано в таблице 6.

Обсуждение

Результаты настоящего исследования подтверждают хорошо известные данные о конверсии ER⁺/PR⁺ опухолей в ER⁺/PR⁻ и ER⁻/PR⁻ в процессе роста РМЖ. Удельный вес ER⁺/PR⁺ опухолей при I стадии заболевания снижался при II-IV стадиях. Соответственно повышался удельный вес ER⁻/PR⁻ опухолей. Частота обнаружения ER⁺/PR⁻ опухолей при II-IV стадиях РМЖ почти не отличалась от таковой при I стадии. Таким образом, конверсия стероидных рецепторов при прогрессии РМЖ происходила главным образом за счет одновременного снижения или прекращения экспрессии и ER, и PR.

Выявленные изменения экспрессии стероидных рецепторов оказались характерными только для больных РМЖ, у которых уровни IgA-Vp и IgA-E2 превышали уровни IgA-Pg. При индивидуальных соотношениях IgA-Vp/IgA-Pg > 1 удельный вес ER⁺/PR⁺ опухолей на II-IV стадиях заболевания был меньше, чем на I стадии, а удельный вес ER⁻/PR⁻ опухолей был соответственно больше. По удельному весу ER⁺/PR⁻ больные РМЖ I и II-IV стадий не различались. В то же время у больных с индивидуальными соотношениями IgA-Vp/IgA-Pg ≤ 1 существенных различий между сравниваемыми стадиями по статусу стероидных рецепторов не обнаружено.

Аналогичные взаимосвязи изменения экспрессии стероидных рецепторов были выявлены при анализе IgA-E2/IgA-Pg. Снижение частоты ER⁺/PR⁺ опухолей и соответствующее повышение частоты ER⁻/PR⁻ опухолей при неизменной частоте ER⁺/PR⁻ опухолей имело место только у больных РМЖ с IgA-E2/IgA-Pg > 1 . У больных с IgA-E2/IgA-Pg ≤ 1 удельные веса ER⁺/PR⁺, ER⁺/PR⁻ и ER⁻/PR⁻ опухолей при I и II-IV стадиях не различались. Полученные результаты свидетельствуют о том, что состояние иммунологического дисбаланса, ассоциированное с высоким риском возникновения РМЖ у здоровых женщин, взаимосвязано и с конверсией стероидных рецепторов в опухоли при росте РМЖ.

Ранее было показано [3], что иммунологический дисбаланс (IgA-Vp/IgA-Pg > 1 и IgA-E2/IgA-Pg > 1) у больных РМЖ ассоциирован с гормональным дисбалансом, снижением содержания в сыворотке Pg по отношению к E2 (Pg/E2 ≤ 5). Известно также, что Pg ингибирует E2-зависимый рост ER⁺ клеточных линий РМЖ и ER⁺ опухолевых эксплантов [16]. Поэтому можно предположить, что избыточное образование IgA-Vp и IgA-E2 по сравнению с образованием IgA-Pg стимулирует пролиферацию ER⁺/PR⁺ клеток РМЖ и конверсию их в ER⁻/PR⁻ клетки за счет снижения в сыворотке содержания Pg по сравнению с E2 и торможения антипролиферативного действия Pg.

Кроме того, повышение уровней IgA-Вр и IgA-E2, отражает взаимно усиливающие канцерогенные эффекты Вр и E2, как было показано в экспериментах на различных клеточных культурах [7, 14], в том числе и образование Вр-ДНК аддуктов [13].

Поскольку очевидными индукторами синтеза антител, специфичных к Вр и E2, являются аддукты их метаболитов с макромолекулярными носителями, целесообразно исследовать взаимосвязи индивидуальных иммунных реакций на химические канцерогены и стероидные гормоны с активностью ферментов биотрансформации, от которой зависит образование указанных аддуктов. В настоящей работе не выявлено предполагаемых ассоциаций иммунологического баланса/дисбаланса с полиморфными локусами генов ферментов биотрансформации у больных РМЖ. Удельный вес женщин с низкими и высокими соотношениями IgA-Вр/IgA-Pg и IgA-E2/IgA-Pg не имел различий между носителями отдельных генотипов генов *CYP1A1*2A*, *CYP1B1*, *CYP19A1*, *GSTT1* и *GSTP1*. Однако это не говорит о том, что такие взаимосвязи действительно отсутствуют. Возможно их обнаружение с расширением спектра генов ферментов биотрансформации и использованием методов нейросетей.

Целесообразность продолжения исследований в этом направлении подтверждается тем, что в настоящей работе впервые выявлены особенности конверсии стероидных рецепторов при росте РМЖ у больных с отдельными генотипами *CYP* и *GST*. Так, у носителей генотипа СС *CYP19A1* различия по распределению ER⁺/PR⁺, ER⁺/PR⁻ и ER⁻/PR⁻ опухолей между I и II-IV стадиями были незначительными. Статистически значимая выраженная конверсия ER⁺/PR⁺ опухолей в ER⁻/PR⁻ обнаружена у носителей генотипа ТТ *CYP19A1*. Таким образом, генотип СС можно считать протективным, а генотип ТТ – стимулирующим «утрату» ER и PR в процессе роста РМЖ. Конверсия ER⁺/PR⁺ опухолей в ER⁻/PR⁻ наблюдались у больных с генотипами АА и АG гена *GSTP1*. В то же время у носителей генотипа GG удельный вес ER⁺/PR⁺ и ER⁺/PR⁻ опухолей II-IV стадий был выше, а ER⁻/PR⁻ значительно ниже, чем при I стадии, т. е. имело место усиление конверсии ER⁺/PR⁺ опухолей в ER⁺/PR⁻ и торможение

в ER⁻/PR⁻. Полученные результаты авторы считают предварительными и нуждающимися в уточнении на большем количестве наблюдений.

Заключение

В результате проведенных исследований впервые был выявлен феномен иммуностимуляции конверсии ER⁺/PR⁺ опухолей в ER⁻/PR⁻ у больных РМЖ с преимущественным образованием IgA-Вр и IgA-E2 по сравнению с образованием IgA-Pg (иммунологический дисбаланс) и иммунологического торможения конверсии у больных с превышением уровней IgA-Pg над IgA-Вр и IgA-E2 (иммунологический баланс). Состояние иммунологического баланса/дисбаланса не зависело от исследованных генетических полиморфизмов (*CYP1A1*2A* (rs4646903), *CYP1B1* (rs1056836), *CYP19A1* (rs2470152), *GSTP1* (rs1695), *GSTT1* (del)). Особенности конверсии стероидных рецепторов при прогрессии РМЖ у больных с отдельными вариантами генов ферментов биотрансформации обусловлены иными механизмами, не связанными с образованием антител против химических канцерогенов и стероидных гормонов.

Практическое значение полученных результатов состоит в том, что иммуноанализ антител против химических канцерогенов и стероидных гормонов можно использовать не только для диагностики индивидуальных онкологических рисков, но и для прогноза конверсии ER⁺/PR⁺ опухолей в ER⁻/PR⁻ и коррекции эндокринотерапии РМЖ. Кроме того, иммунологические методы защиты человека от химических канцерогенов окружающей среды, предлагаемые для профилактики рака [8, 19], в перспективе можно будет применять и в комплексе лечения РМЖ с целью коррекции иммунологического дисбаланса и торможения конверсии стероидных рецепторов.

Благодарности

Авторы благодарят академика Л.И. Иванову за поддержку выбранного направления исследований, а также сотрудников лаборатории иммунохимии Института экологии человека ФИЦ УУХ СО РАН Аносову Т.П., Аносову М.П., Гурова Е.А., Чернокульскую К.С. за техническую поддержку настоящей работы.

Список литературы / References

1. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Гордеева Л.А., Мун С.А., Костянко М.В., Антонов А.В., Титов В.А., Вержбицкая Н.Е., Вафин И.А. Иммунологический дисбаланс при раке молочной железы и раке легкого у женщин в постменопаузе // Медицинская иммунология, 2018. Т.20, № 6. С. 927-934. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Gordeeva L.A., Mun S.A., Kostyanko M.V., Antonov A.V., Titov V.A., Verzhbitskaya N.E., Vafin I.A. Immunological imbalance in breast cancer and lung cancer in postmenopausal women. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2018, Vol. 20, no. 6, pp. 927-934. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2018-6-927-934.

2. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Гордеева Л.А., Мун С.А., Костянко М.В., Колпинский Г.И., Вафин И.А., Антонов А.В., Вержбицкая Н.Е. Иммунные реакции на химические канцерогены и стероидные гормоны у больных с доброкачественными и злокачественными опухолями молочной железы // Российский иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 1. С. 101-108. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Gordeeva L.A., Mun S.A., Kostyanko M.V., Kolpinsky G.I., Vafin I.A., Antonov A.V., Verzhbitskaya N.E. Immune reactions to clinical carcinogens and steroid hormones in breast pre-cancer and cancer patients. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2021, Vol. 24, no. 1, pp. 101-108. (In Russ.)]
3. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Мун С.А., Гордеева Л.А., Костянко М.В., Луценко В.А., Колпинский Г.И., Брежнева Е.В., Вафин И.А. Индивидуальный иммунологический фенотип и гормональный баланс у женщин в постменопаузе // Российский иммунологический журнал, 2020. Т. 23, № 1. С. 61-68. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Mun S.A., Gordeeva L.A., Kostyanko M.V., Lutsenko V.A., Kolpinsky G.I., Brezhneva E.V., Vafin I.A. Immunological phenotype and hormonal balance in postmenopausal women. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2020, Vol. 23, no. 1, pp. 61-68. (In Russ.)]
4. Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность). Под ред. Каприна А.Д., Старинского В.В., Шахзадовой А.О. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2021. 252 с. [Malignant neoplasms in Russia in 2020 (morbidity and mortality). Ed. Kaprin A.D., Starinsky V.V., Shakhzadova A.O.] Moscow: P. Herzen Moscow State Medical Research Institute – Branch of the Federal State Budgetary Institution “NMIC of Radiology” of the Ministry of Health of Russia, 2021. 252 p.
5. Шашова Е.Е., Кондакова И.В., Слонимская Е.М., Глущенко С.А. Сравнительное изучение содержания рецепторов эстрогенов и прогестерона в неизменной, опухолевой и метастатической тканях при раке молочной железы // Сибирский онкологический журнал, 2008. Т. 4, № 28. С. 42-45. [Shashova E.E., Kondakova I.V., Slonimskaya E.M., Glushchenko S.A. Comparative study of the levels of estrogen and progesterone receptors in normal, tumor and metastatic tissues of breast cancer patients. *Sibirskiy onkologicheskiy zhurnal = Siberian Journal of Oncology*, 2008, Vol. 4, no. 28, pp. 42-45. (In Russ.)]
6. Cavalieri E.L., Rogan E.G. Depurinating estrogen-DNA adducts, generators of cancer initiation: their minimization leads to cancer prevention. *Clin. Transl. Med.*, 2016, Vol. 5, no. 1, e12. doi: 10.1186/s40169-016-0088-3.
7. Chen Z., Zhang Y., Yang J., Jin M., Wang X.W., Shen Z.Q., Qiu Z., Zhao G., Wang J., Li J.W. Estrogen promotes benzo[a]pyrene-induced lung carcinogenesis through oxidative stress damage and cytochrome c-mediated caspase-3 activation pathway in female mice. *Cancer Lett.*, 2011, Vol. 308, no. 1, pp. 14-22.
8. de Buck S.S., Muller C.P. Immunopropylactic approaches against chemical carcinogenesis. *Vaccine*, 2005, Vol. 23, no. 17-18, pp. 2403-2406.
9. Ewa B., Danuta M.Š. Polycyclic aromatic hydrocarbons and PAH-related DNA adducts. *J. Appl. Genet.*, 2017, Vol. 58, no. 3, pp. 321-330.
10. Gammon M.D., Sagiv S.K., Eng S.M., Shantakumar S., Gaudet M.M., Teitelbaum S.L., Britton J.A., Terry M.B., Wang L.W., Wang Q., Stellman S.D., Beyea J., Hatch M., Kabat G.C., Wolff M.S., Levin B., Neugut A.I., Santella R.M. Polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts and breast cancer: a pooled analysis. *Arch. Environ. Health.*, 2004, Vol. 59, no. 12, pp. 640-649.
11. Hajian-Tilaki K. Receiver Operating Characteristic (ROC) curve analysis for medical diagnostic test evaluation. *Caspian J. Intern. Med.*, 2013, Vol. 4, no. 2, pp. 627-635.
12. Howlader N., Altekruse S.F., Li C.I., Chen V.W., Clarke C.A., Ries L.A., Cronin K.A. US incidence of breast cancer subtypes defined by joint hormone receptor and HER2 status. *J. Natl Cancer Inst.*, 2014, Vol. 106, no. 5, dju055. doi: 10.1093/jnci/dju055.
13. Kang S.C., Lee B.M. Effect of estrogen receptor (ER) on benzo[a]pyrene-DNA adduct formation in human breast cancer cells. *J. Toxicol. Environ. Health A*, 2005, Vol. 68, no. 21, pp. 1833-1840.
14. Lin S., Lin C.J., Hsieh D.P., Li L.A. ER α phenotype, estrogen level, and benzo[a]pyrene exposure modulate tumor growth and metabolism of lung adenocarcinoma cells. *Lung Cancer*, 2012, Vol. 75, no. 3, pp. 285-292.
15. Lodovici M., Luceri C., Guglielmi F., Bacci C., Akpan V., Fonnesu M.L., Boddi V., Dolara P. Benzo(a)pyrene diolepoxide (BPDE)-DNA adduct levels in leukocytes of smokers in relation to polymorphism of CYP1A1, GSTM1, GSTP1, GSTT1, and mEH. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2004, Vol. 13, no. 8, pp. 1342-1348.
16. Mohammed H., Russell I.A., Stark R., Rueda O.M., Hickey T.E., Tarulli G.A., Serandour A.A., Birrell S.N., Bruna A., Saadi A., Menon S., Hadfield J., Pugh M., Raj G.V., Brown G.D., D'Santos C., Robinson J.L., Silva G., Launchbury R., Perou C.M., Stingl J., Caldas C., Tilley W.D., Carroll J.S. Progesterone receptor modulates ER α action in breast cancer. *Nature*, 2015, Vol. 523, no. 7560, pp. 313-317.
17. Rundle A., Tang D., Hibshoosh H., Estabrook A., Schnabel F., Cao W., Grumet S., Perera F.P. The relationship between genetic damage from polycyclic aromatic hydrocarbons in breast tissue and breast cancer. *Carcinogenesis*, 2000, Vol. 21, no. 7, pp. 1281-1289.

18. Rundle A., Tang D., Mooney L., Grumet S., Perera F. The interaction between alcohol consumption and GSTM1 genotype on polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adduct levels in breast tissue. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2003, Vol. 12, no. 9, pp. 911-914.
19. Schellenberger M.T., Farinelle S., Willième S., Muller C.P. Evaluation of adjuvants for a candidate conjugate vaccine against benzo[a]pyrene. *Hum. Vaccin.*, 2011, Vol. 7, no. 1, pp. 166-173.
20. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer Statistics, 2020. *CA Cancer J. Clin.*, 2020, Vol. 70, no. 1, pp. 7-30.
21. Yager J.D. Mechanisms of estrogen carcinogenesis: The role of E2/E1-quinone metabolites suggests new approaches to preventive intervention – A review. *Steroids*, 2015, Vol. 99 (Pt A), pp. 56-60.
22. Yang L., Zahid M., Liao Y., Rogan E.G., Cavalieri E.L., Davidson N.E., Yager J.D., Visvanathan K., Groopman J.D., Kensler T.W. Reduced formation of depurinating estrogen-DNA adducts by sulforaphane or KEAP1 disruption in human mammary epithelial MCF-10A cells. *Carcinogenesis*, 2013, Vol. 34, no. 11, pp. 2587-2592.
23. Zhang M.H., Man H.T., Zhao X.D., Dong N., Ma S.L. Estrogen receptor-positive breast cancer molecular signatures and therapeutic potentials (Review). *Biomed. Rep.*, 2013, Vol. 2, no. 1, pp. 41-52.

Авторы:

Глушков А.Н. – д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории иммуногенетики Института экологии человека ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук», г. Кемерово, Россия

Поленок Е.Г. – к.фарм.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммунохимии Института экологии человека ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук», г. Кемерово, Россия

Гордеева Л.А. – к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммуногенетики Института экологии человека ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук», г. Кемерово, Россия

Мун С.А. – к.м.н., доцент, старший научный сотрудник лаборатории иммуногенетики Института экологии человека ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук», г. Кемерово, Россия

Authors:

Glushkov A.N., PhD, MD (Medicine), Professor, Chief Research Associate, Immunogenetics Laboratory, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Kemerovo, Russian Federation

Polenok E.G., PhD (Pharmacy), Leading Research Associate, Laboratory of Immunochemistry, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Kemerovo, Russian Federation

Gordeeva L.A., PhD (Biology), Leading Research Associate, Laboratory of Immunogenetics, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Kemerovo, Russian Federation

Mun S.A., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Laboratory of Immunogenetics, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Kemerovo, Russian Federation

Костянюк М.В. — ведущий инженер кафедры органической химии Института фундаментальных наук ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», г. Кемерово, Россия

Антонов А.В. — заведующий отделением опухолей молочной железы ГБУЗ «Кузбасский клинический онкологический диспансер имени М.С. Раппопорта», г. Кемерово, Россия

Вержбицкая Н.Е. — к.м.н., врач-патологоанатом ГБУЗ «Кузбасский клинический онкологический диспансер имени М.С. Раппопорта», г. Кемерово, Россия

Воронина Е.Н. — к.б.н., научный сотрудник группы молекулярной генетики ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, Россия

Колпинский Г.И. — д.м.н., профессор кафедры лучевой диагностики, лучевой терапии и онкологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет», г. Кемерово, Россия

Kostyanko M.V., Leading Engineer, Department of Organic Chemistry, Institute of Fundamental Sciences, Kemerovo State University, Kemerovo, Russian Federation

Antonov A.V., Chief, Breast Cancer Department, Kuzbass Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russian Federation

Verzhbitskaya N.E., PhD (Medicine), Clinical Pathologist, Department of Pathology, Kuzbass Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russian Federation

Voronina E.N., PhD (Biology), Research Fellow, Molecular Genetics Group, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

Kolpinskiy G.I., PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Radiology, Radiotherapy and Oncology, Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russian Federation

Поступила 04.04.2022
Принята к печати 22.05.2022

Received 04.04.2022
Accepted 22.05.2022