

Полиморфные варианты гена *PPP1R21*, ассоциированного с уровнем белка, связывающего половые гормоны, и риск развития рака молочной железы различных стадий

К.Н. Пасенов, И.В. Пономаренко, М.И. Чурносов✉

ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», Белгород, Россия

Аннотация

Цель. Оценить связь полиморфных вариантов генов, ассоциированных с уровнем белка, связывающего половые гормоны (sex hormone-binding globulin, SHBG) по данным полногеномных исследований (genome-wide association studies, GWAS), с риском развития рака молочной железы (РМЖ) I–II и III–IV стадий.

Материалы и методы. Провели сравнительный генетический анализ на выборках больных РМЖ – 254 пациентки с I–II стадиями и 91 с III–IV стадиями заболевания, и 1140 женщин контрольной группы. В работе рассмотрены 4 однонуклеотидные замены, связанные с уровнем циркулирующего SHBG по данным GWAS: g.107546375A>G *PRMT6* (rs17496332), g.27519736T>C *GCKR* (rs780093), g.48419260T>C *PPP1R21* (rs10454142), g.98364050T>A *BAIAP2L1* (rs3779195).

Результаты. Выявили различия в вовлеченности полиморфных вариантов генов-кандидатов SHBG в формирование РМЖ I–II и III–IV стадий. Полиморфный вариант rs10454142 T>C в гене *PPP1R21* ассоциирован с риском развития РМЖ I–II стадий: при наличии у женщины аллельного варианта С этого локуса риск развития заболевания начальных стадий увеличивался (T/T vs. T/C vs. C/C, отношение шансов 1,35, 95% доверительный интервал 1,05–1,75; $p=0,021$; $p_{\text{permutat}}=0,027$). При этом увеличение количества аллелей С в генотипе женщины приводило к повышению риска развития РМЖ I–II стадий на 17–18% на каждый аллель. Ассоциаций полиморфных вариантов генов-кандидатов SHBG с риском тяжелого течения заболевания (III–IV стадии болезни) не установлено. Однонуклеотидная замена rs10454142 T>C в гене *PPP1R21* и сильно сцепленные с ней однонуклеотидные полиморфные варианты (single nucleotide polymorphisms, SNP) являются функционально значимыми (находятся в регионах энхансеров и промоторов) в эпителиальных и миоэпителиальных клетках молочной железы, печени, влияют на уровень метилирования генома, связаны с уровнем экспрессии гена *GTF2A1L*.

Ключевые слова: рак молочной железы, SHBG, SNP, стадии заболевания, ассоциации

Для цитирования: Пасенов К.Н., Пономаренко И.В., Чурносов М.И. Полиморфные варианты гена *PPP1R21*, ассоциированного с уровнем белка, связывающего половые гормоны, и риск развития рака молочной железы различных стадий. Гинекология. 2024;26(1):89–94. DOI: 10.26442/20795696.2024.1.202644

© ООО «КОНСИЛИУМ МЕДИКУМ», 2024 г.

Введение

Одним из наиболее распространенных онкологических заболеваний у женщин является рак молочной железы – РМЖ [1]. Согласно материалам, представленным Международным агентством по изучению рака, в мире ежегодно регистрируется более чем 2 млн вновь выявленных случаев РМЖ [2]. С этим видом рака связан практически каждый 4-й случай (24,5%) онкозаболеваний у женщин [3]. В Российской Федерации заболеваемость РМЖ с впервые в жизни установленным диагнозом составляет 82,8 на 100 тыс. человек при сохраняющейся тенденции к росту за последние 10 лет – показатель прироста заболеваемости за 2008–2018 гг. равен 22,15% [4].

Семейные исследования РМЖ показали существенную роль наследственных факторов в формировании заболевания – на долю генетической компоненты приходится 31% [5]. Многочисленные полногеномные исследования РМЖ, показавшие связь с заболеванием свыше 180 полиморфных локусов генов-кандидатов, позволяют объяснить 18%

наследуемости заболевания [6]. С общеизвестными в настоящее время высокопенетрантными мутациями в генах *BRCA1/BRCA2*, *ATM*, *CHEK2*, *PALB2* и других связано лишь 5% случаев РМЖ [7]. Таким образом, сохраняющаяся «неясность» по генетическим детерминантам более чем 40% наследственно-обусловленных случаев РМЖ диктует необходимость продолжения исследований в этой области.

Считается доказанным, что РМЖ – это гормонозависимое онкозаболевание, в патофизиологию которого вовлечены половые гормоны – эстрогены и тестостерон [8–10]. При этом высокий уровень эстрогенов и тестостерона имеет рискованное значение для РМЖ [8–10]. Согласно имеющимся литературным данным уровень биологически активных тестостерона и эстрогенов в значительной степени зависит от содержания SHBG (sex hormone-binding globulin), который связывает эти половые гормоны и таким образом определяет содержание их свободных форм (биологически активных) в организме женщины [11], что имеет важное значение для патофизиологии РМЖ [8–10]. Следует отме-

Информация об авторах / Information about the authors

✉ **Чурносов Михаил Иванович** – д-р мед. наук, проф., зав. каф. медико-биологических дисциплин медицинского института ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». E-mail: churnosov@bsu.edu.ru; ORCID: 0000-0003-1254-6134

Пасенов Константин Николаевич – аспирант каф. медико-биологических дисциплин медицинского института ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». E-mail: 944472@bsu.edu.ru; ORCID: 0009-0002-0689-4917

Пономаренко Ирина Васильевна – д-р мед. наук, проф. каф. медико-биологических дисциплин медицинского института ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет». E-mail: ponomarenko_i@bsu.edu.ru; ORCID: 0000-0002-5652-0166

✉ **Mikhail I. Churnosov** – D. Sci. (Med.), Prof., Belgorod State National Research University. E-mail: churnosov@bsu.edu.ru; ORCID: 0000-0003-1254-6134

Konstantin N. Pasenov – Graduate Student, Belgorod State National Research University. E-mail: 944472@bsu.edu.ru; ORCID: 0009-0002-0689-4917

Irina V. Ponomarenko – D. Sci. (Med.), Belgorod State National Research University. E-mail: ponomarenko_i@bsu.edu.ru; ORCID: 0000-0002-5652-0166

Polymorphic variants of the *PPP1R21* gene associated with the level of sex hormone-binding globulin and the risk of various stages of breast cancer

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

Belgorod State National Research University, Belgorod, Russia

Abstract

Aim. To assess the relationship of polymorphic gene variants associated with the level of sex hormone-binding globulin (SHBG) according to genome-wide association studies (GWAS) with the risk of stage I–II and stage III–IV breast cancer.

Materials and methods. A comparative genetic analysis was carried out on samples of patients with breast cancer: 254 patients with stages I–II and 91 with stages III–IV, and 1140 females of the control group. The paper considers 4 single nucleotide substitutions associated with the level of circulating SHBG according to GWAS: g.107546375A>G *PRMT6* (rs17496332), g.27519736T>C *GCKR* (rs780093), g.48419260T>C *PPP1R21* (rs10454142), g.98364050T>A *BAIAP2L1* (rs3779195).

Results. Differences in the involvement of polymorphic variants of SHBG candidate genes in the development of stages I–II and III–IV breast cancer were revealed. The rs10454142 T>C polymorphic variant in the *PPP1R21* gene is associated with the risk of stage I–II breast cancer: women with an allelic variant of this locus have a higher risk of early-stage disease (T/T vs. T/C vs. C/C, odds ratio 1.35, 95% confidence interval 1.05–1.75; $p=0.021$; $p_{\text{permutat}}=0.027$). Also, an increase in the number of C alleles in the female genotype increased the risk of stage I–II breast cancer by 17–18% per allele. There were no associations of polymorphic variants of SHBG candidate genes with the risk of severe disease (stage III–IV). The single nucleotide substitution rs10454142 T>C in the *PPP1R21* gene and the single nucleotide polymorphisms strongly linked to it are functionally significant (located in the regions of enhancers and promoters) in the epithelial and myoepithelial cells of the mammary gland and liver, affect the level of genome methylation, and are associated with the level of *GTF2A1L* gene expression.

Keywords: breast cancer, sex hormone-binding globulin, single nucleotide polymorphism, stages of the disease, associations

For citation: Pasenov KN, Ponomarenko IV, Churnosov MI. Polymorphic variants of the *PPP1R21* gene associated with the level of sex hormone-binding globulin and the risk of various stages of breast cancer. *Gynecology*. 2024;26(1):89–94. DOI: 10.26442/20795696.2024.1.202644

титель, что имеются данные о вовлеченности генетических детерминант SHBG в формирование РМЖ [12], однако при этом они достаточно противоречивы [10], а в Российской Федерации такие исследования не проводили, что определяет актуальность настоящей работы.

Цель исследования – оценить связь полиморфных вариантов генов, ассоциированных с уровнем SHBG по данным GWAS (genome-wide association studies), с риском развития РМЖ I–II и III–IV стадий.

Материалы и методы

Исследование выполнено на выборке из 345 больных РМЖ, из которых 254 пациентки с I–II стадиями и 91 с III–IV стадиями заболевания. Контрольная группа составила 1140 женщин. Выборка больных сформирована в ОГБУЗ «Белгородский онкологический диспансер» в 2010–2016 гг. из женщин с карциномой молочной железы, которая впервые выявлена и подтверждена морфологически [13]. Контрольная группа включала женщин без клинических и анамнестических признаков РМЖ. При формировании групп исследования учитывали (критерии включения) национальность (русский этнос согласно самоидентификации), место рождения и проживания – Центрально-Черноземный регион России [14]. От всех женщин получено письменное согласие на участие в данном исследовании. Работа согласована с этическим комитетом НИУ БелГУ. Стадии заболевания определялись в соответствии с клиническими рекомендациями «Рак молочной железы» [15]. Среди обследуемых зарегистрированы следующие стадии заболевания: I (n=64), II (n=190), III (n=72), IV (n=19). При изучении ассоциаций однонуклеотидных полиморфизмов (single nucleotide polymorphism – SNP) с РМЖ пациентки объединены в 2 группы (с целью повышения мощности статистического анализа): I–II стадии (n=254), III–IV стадии (n=91). Средний возраст больных I–II (54,94±12,68 года) и III–IV (56,46±12,96 года) стадий заболевания не отличался от показателя контрольной группы (55,02±12,35 лет; $p_{\text{Манна-Уитни}}>0,05$).

В работе рассмотрены 4 однонуклеотидные замены, связанные с уровнем циркулирующего SHBG по данным GWAS [16]: g.107546375A>G *PRMT6* (rs17496332), g.27519736T>C *GCKR* (rs780093), g.48419260T>C *PPP1R21* (rs10454142), g.98364050T>A *BAIAP2L1* (rs3779195). Данные представлены согласно эталонному геному человека GRCh38. Для генотипирования полиморфных вариантов использовали ДНК больных и контроля, наборы реагентов, разработанные ООО «ТестГен» (Ульяновск, Россия) с применением ранее представленной методики [17].

Выполнена оценка наблюдаемого распределения генотипов исследуемых SNP в сравнении с ожидаемым при соблюдении равновесия Харди–Вайнберга. Для выявления ассоциаций SNP с РМЖ разных стадий использовали метод логистического регрессионного анализа. Параметры отношения шансов (ОШ) и 95% доверительного интервала (95% ДИ) вычисляли в программе gPLINK согласно следующим генетическим моделям: аллельная, доминантная, рецессивная, аддитивная. При расчетах учитывалась ковариата – возраст женщины. С целью минимизации рисков получения ложноположительных результатов проводили пермутационное тестирование. После его проведения за статистически значимый уровень принимали значение p_{perm} не выше 0,05. Однонуклеотидная замена, продемонстрировавшая связь с РМЖ определенных стадий, и сильно сцепленные с ней 10 SNP анализировались с позиций их функциональной значимости [использовались базы данных HaploReg (дата обращения: 29.07.2023; <https://pubs.broadinstitute.org/mammals/haploreg/haploreg.php>), QTLbase (дата обращения: 20.08.2023; <http://www.mulinlab.org/qtlbase/index.htm>) и GTExPortal (дата обращения: 10.08.2023; <https://gtexportal.org/home/>)].

Результаты и обсуждение

При анализе распределения генотипов по 4 изученным SNP (табл. 1) во всех рассмотренных группах женщин выявили соблюдение равновесия Харди–Вайнберга ($p>0,05$).

Таблица 1. Распределение аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов-кандидатов SHBG у больных РМЖ I–II, III–IV стадий заболевания и в контроле**Table 1. Distribution of alleles and genotypes of polymorphic variants of SHBG candidate genes in patients with stage I–II and III–IV breast cancer and in controls**

SNP	Аллели, генотипы	РМЖ I–II стадий (n=254), абс. (%)	РМЖ III–IV стадий (n=91), абс. (%)	Контрольная группа (n=1140), абс. (%)
g.107546375A>G <i>PRMT6</i> (rs17496332)	A/A	105 (42)	44 (49)	432 (40)
	A/G	109 (44)	32 (35)	486 (46)
	G/G	35 (14)	14 (16)	152 (14)
	Минорный аллель G	36%	33%	37%
g.27519736T>C <i>GCKR</i> (rs780093)	C/C	87 (35)	31 (34)	392 (36)
	C/T	127 (51)	51 (57)	516 (47)
	T/T	36 (14)	8 (9)	184 (17)
	Минорный аллель T	40%	37%	41%
g.48419260T>C <i>PPP1R21</i> (rs10454142)	T/T	101 (41)	37 (42)	507 (47)
	T/C	120 (49)	44 (49)	462 (43)
	C/C	25 (10)	8 (9)	107 (10)
	Минорный аллель C	35%	34%	31%
g.98364050T>A <i>BAIAP2L1</i> (rs3779195)	T/T	158 (65)	61 (69)	741 (69)
	T/A	76 (32)	27 (30)	292 (27)
	A/A	8 (3)	1 (1)	44 (4)
	Минорный аллель T	19%	16%	18%

Установлены ассоциации полиморфного варианта rs10454142 T>C в гене *PPP1R21* с риском развития РМЖ I–II стадий: при наличии у женщины аллельного варианта C этого локуса риск развития заболевания начальных стадий повышался (T/T vs. T/C vs. C/C, ОШ 1,35, 95% ДИ 1,05–1,75; $p=0,021$; $p_{\text{permutat}}=0,027$); табл. 2. При этом увеличение количества аллелей C в генотипе женщины приводит к повышению риска развития РМЖ I–II стадий на 17–18% на каждый аллель. Следует отметить, что мы не выявили статистически подтвержденных ассоциаций рассмотренных нами 4 локусов генов-кандидатов SHBG с риском тяжелого течения заболевания (III–IV стадии болезни).

Проведенный *in silico* анализ (на основе базы данных HaploReg) показал выраженное эпигенетическое значение полиморфного варианта rs10454142 T>C в гене *PPP1R21* и ряда сильно сцепленных с ними локусов в клеточных линиях молочной железы – Breast variant Human Mammary Epithelial Cells (vHMEC) и Breast Myoepithelial Primary Cells. Так, однонуклеотидная замена rs10454142 T>C в гене *PPP1R21* и 4 сильно сцепленных с ней SNP (rs78597273, rs11689645, rs201414717, rs10454143) располагались в регионе энхансеров в эпителиальных клетках молочной железы (vHMEC). Полиморфный вариант rs78597273 находился в регионе энхансеров в миоэпителиальных клетках молочной железы, а еще один сцепленный полиморфный вариант rs4638844 локализовался в участке активного промотора в миоэпителиальных клетках молочной железы.

Примечательными являются выявленные факты выраженной функциональной активности полиморфного варианта rs10454142 T>C в гене *PPP1R21* (позиция 48419260) и двух рядом расположенных (в соседних позициях нуклеотидов – 48419259 и 48419261) и сильно сцепленных с ним SNP при показателе силы сцепления $r^2=1,00$ и неравновесии по сцеплению $LD=1,00$ – rs201414717 и rs10454143 в клетках печени – органе, в котором синтезируется SHBG [10, 11]. Данные однонуклеотидные замены располагались в регионах гистоновых белков, маркирующих энхансеры

(H3K4me1), промоторы (H3K4me3), активные энхансеры (H3K27ac) и активные промоторы (H3K9ac).

Далее провели анализ связи полиморфного варианта rs10454142 T>C в гене *PPP1R21* и 10 локусов, находящихся с ним в неравновесии по сцеплению, с уровнем метилирования генома (mQTL, на основе базы данных QTLbase, дата обращения: 20.08.2023). Установлены значимые множественные mQTL эффекты как полиморфного варианта rs10454142 T>C в гене *PPP1R21*, так и всех 10 сильно сцепленных с ним локусов в крови, иммунокомпетентных клетках (моноциты CD14+, нативные T-клетки CD4+), печени (карцинома), коре головного мозга. Следует отметить, что, во-первых, однонуклеотидная замена rs10454142 T>C в гене *PPP1R21* и ряд сцепленных с ним локусов проявляют свои функциональные эффекты в печени – органе, в котором происходит образование изучаемого в работе SHBG [10, 11]. Во-вторых, в большинстве случаев эффекты полиморфных вариантов связаны с гиперметилированием, что может приводить к снижению экспрессии генов. Интересно, что генетический вариант C rs10454142 в гене *PPP1R21* связан с низкой транскрипцией гена *GTF2A1L* в печени (NES=-0,47; $p=0,0000012$), на экспрессию этого гена в печени влияют и 8 сильно сцепленных с ним SNP (материалы базы GTExPortal).

Результаты полногеномного исследования 7046 индивидуумов, выполненного A. Coviello и соавт. в 2012 г., свидетельствуют об ассоциации полиморфного варианта rs10454142 T>C в гене *PPP1R21* (2p16.3) с уровнем циркулирующего SHBG в организме ($p=1 \times 10^{-7}$), причем референсный аллель T связан с более высоким содержанием данного белка – $\beta=0,026$ [16]. Материалы нескольких GWAS указывают на ассоциации ряда локусов, сильно сцепленных с однонуклеотидной заменой rs10454142 T>C в гене *PPP1R21*, с уровнем различных ферментов печени: аланинаминотрансфераза – rs10208627, $p=3 \times 10^{-9}$ [18], $r^2=0,56$, $D'=1,00$; щелочная фосфатаза – rs6749773, $p=1 \times 10^{-13}$ [18], $p=4 \times 10^{-9}$ [19], $p=1 \times 10^{-15}$ [20], $r^2=0,53$, показатель силы сцепления $D'=1,00$; γ -глута-

Таблица 2. Ассоциации полиморфных вариантов генов-кандидатов SHBG с РМЖ I–II и III–IV стадий
Table 2. Associations of polymorphic variants of SHBG candidate genes with stages I–II and III–IV breast cancer

SNP	Генетические модели	РМЖ I–II стадий (n=254)	РМЖ III–IV стадий (n=91)
g.107546375A>G <i>PRMT6</i> (rs17496332)	G vs. A (1)	ОШ 0,96, 95% ДИ 0,78–1,18; $p=0,685$	ОШ 0,85, 95% ДИ 0,62–1,18; $p=0,338$
	A/A vs. A/G vs. G/G (2)	ОШ 1,03, 95% ДИ 0,81–1,31; $p=0,824$	ОШ 0,90, 95% ДИ 0,63–1,27; $p=0,537$
	A/A vs. A/G+G/G (3)	ОШ 0,94, 95% ДИ 0,68–1,32; $p=0,739$	ОШ 0,68, 95% ДИ 0,42–1,09; $p=0,122$
	A/A+A/G vs. G/G (4)	ОШ 1,25, 95% ДИ 0,78–1,99; $p=0,356$	ОШ 1,44, 95% ДИ 0,75–2,75; $p=0,276$
g.27519736T>C <i>GCKR</i> (rs780093)	T vs. C (1)	ОШ 0,97, 95% ДИ 0,80–1,19; $p=0,781$	ОШ 0,87, 95% ДИ 0,64–1,19; $p=0,392$
	C/C vs. C/T vs. T/T (2)	ОШ 0,96, 95% ДИ 0,75–1,22; $p=0,714$	ОШ 0,82, 95% ДИ 0,57–1,17; $p=0,277$
	C/C vs. C/T+T/T (3)	ОШ 0,95, 95% ДИ 0,67–1,35; $p=0,785$	ОШ 0,94, 95% ДИ 0,57–1,54; $p=0,799$
	C/C+T/T vs. T/T (4)	ОШ 0,93, 95% ДИ 0,59–1,45; $p=0,738$	ОШ 0,51, 95% ДИ 0,23–1,12; $p=0,091$
g.48419260T>C <i>PPP1R21</i> (rs10454142)	C vs. T (1)	ОШ 1,15, 95% ДИ 0,94–1,42; $p=0,178$	ОШ 1,11, 95% ДИ 0,80–1,54; $p=0,527$
	T/T vs. T/C vs. C/C (2)	ОШ 1,35, 95% ДИ 1,05–1,75; $p=0,021$	ОШ 1,02, 95% ДИ 0,83–1,74; $p=0,338$
	T/T vs. T/C+C/C (3)	ОШ 1,38, 95% ДИ 0,99–1,94; $p=0,061$	ОШ 1,23, 95% ДИ 0,76–1,98; $p=0,407$
	T/T+T/C vs. C/C (4)	ОШ 1,68, 95% ДИ 0,98–2,87; $p=0,058$	ОШ 1,34, 95% ДИ 0,59–3,02; $p=0,484$
g.98364050T>A <i>BAIAP2L1</i> (rs3779195)	A vs. T (1)	ОШ 1,10, 95% ДИ 0,85–1,41; $p=0,478$	ОШ 0,91, 95% ДИ 0,60–1,37; $p=0,649$
	T/T vs. T/A vs. A/A (2)	ОШ 1,13, 95% ДИ 0,84–1,52; $p=0,428$	ОШ 0,89, 95% ДИ 0,56–1,40; $p=0,612$
	T/T vs. T/A+A/A (3)	ОШ 1,20, 95% ДИ 0,84–1,72; $p=0,305$	ОШ 0,94, 95% ДИ 0,56–1,57; $p=0,813$
	T/T+T/A vs. A/A (4)	ОШ 0,90, 95% ДИ 0,36–2,23; $p=0,819$	ОШ 0,37, 95% ДИ 0,05–2,95; $p=0,351$

Примечание. p – уровень статистической значимости (жирным выделены достоверные различия). Анализировали 4 генетические модели: аллельную (1), аддитивную (2), доминантную (3), рецессивную (4).

милтранспептидаза – rs13429377, $p=3 \times 10^{-22}$ [18], $r^2=0,59$, $D'=1,00$. Следует отметить, что печень является местом синтеза SHBG [11], и при этом, как показали наши *in silico* данные, полиморфный вариант rs10454142 T>C в гене *PPP1R21* и сильно сцепленные с ним локусы являются функционально активными в клетках печени – они локализованы в регионах гистоновых белков, маркирующих энхансеры / промоторы / активные энхансеры / активные промоторы, ассоциированы с уровнем экспрессии гена *GTF2A1L*, связаны с величиной метилирования ряда участков генома при карциноме печени.

Важно подчеркнуть, что аллель С rs10454142 гена *PPP1R21*, ассоциированный согласно нашим данным с повышенным риском развития РМЖ, связан согласно данным GWAS [16] и с низкой концентрацией циркулирующего SHBG в организме. С использованием метода менделевской рандомизации показана связь ряда полиморфных вариантов, ассоциированных по данным GWAS с уровнем SHBG [16], с риском РМЖ у постменопаузальных женщин, причем повышение концентрации циркулирующего SHBG (на каждые 25 нмоль/л) приводило к снижению риска РМЖ как в целом (ОШ 0,94; $p=0,006$), так и ER (estrogen receptors, рецепторы эстрогенов) позитивного РМЖ (ОШ 0,92; $p=0,003$), но вместе с этим риск развития ER-негативного РМЖ, наоборот, возрастал – ОШ 1,09; $p=0,047$ [12]. Аналогичные данные, снижение риска ER-позитивного РМЖ и повышение риска ER-негативного РМЖ при повышении уровня SHBG, получены и в работе F. Chen и соавт., выполненной на основе менделевской рандомизации данных Breast Cancer Association Consortium [9].

SHBG благодаря наличию стероид-взаимодействующих сайтов связывает и транспортирует тестостерон, эстрадиол и другие половые гормоны в плазме, влияя таким образом на их биодоступность [21]. Между концентрацией циркулирующего SHBG и уровнем биодоступных (активных) тестостерона и эстрогенов в организме женщины имеются обратные корреляции [11, 21]. При этом концентрация свободного тестостерона очень сильно зависит от концентрации SHBG в плазме, поскольку только 1–2% тестостерона

в циркулирующей крови являются свободными (несвязанными) и поэтому активными, тогда как 65% тестостерона связаны с SHBG, а остальное его количество (>30%) связано с альбумином. Для эстрадиола имеются следующие данные: 38% связаны с SHBG, 60% с альбумином и только 2% являются биодоступными [11, 22]. Таким образом, женщины с низким уровнем SHBG будут иметь повышенный уровень свободного тестостерона и эстрогенов, и наоборот, высокое содержание циркулирующего SHBG будет обуславливать низкие концентрации биодоступных тестостерона и эстрогенов в организме. В многочисленных ранее проведенных работах показано, что высокий уровень биодоступных эстрогенов и тестостерона имеет рисковое значение для РМЖ, и, соответственно, низкие их концентрации будут снижать риск возникновения заболевания [8–10].

Итак, наши результаты о рисковом роли при формировании РМЖ I–II стадий аллеля С rs10454142 гена *PPP1R21*, связанного по данным GWAS с низким уровнем SHBG в организме, полностью согласуются с вышеприведенными данными, согласно которым полиморфные варианты, связанные по данным GWAS с повышенным уровнем SHBG в организме, коррелируют с низким риском РМЖ как в целом, так и ER-позитивного варианта опухоли. Наблюдаемые при этом низкие концентрации биодоступных половых гормонов оказывают протективное влияние на возникновение данной онкопатологии. Следует подчеркнуть, что в исследуемой выборке больных большинство пациенток имели ER-позитивный РМЖ (66%) и постменопаузальный статус (68,16%).

Используя подход *in silico*, мы установили, что полиморфный вариант rs10454142 T>C в гене *PPP1R21* и 8 сильно сцепленных с ним SNP влияют на экспрессию гена *GTF2A1L* в печени. Ген *GTF2A1L* кодирует одну из субъединиц (подобная субъединица 1) общего фактора транскрипции ПА, имеющего «ключевое» значение в регуляции генной экспрессии, – данная субъединица является специфичной для половых клеток [23]. Этот фактор транскрипции участвует во взаимодействии промотор-связывающего белка и ТАТА-участка ДНК, что обеспечивает

необходимую для начала транскрипции сборку и стабильность комплекса РНК–полимераза–промотор на стадии преинициации транскрипции [24]. Ген *GTF2A1L* является значимым в формировании опухолей, имеются материалы о связи его экспрессии с такими онкологическими заболеваниями, как ангиосаркома молочной железы [25] и карцинома эндометрия [26].

Результаты ранее проведенных исследований по этой теме неоднозначны и нередко противоречивы. Разнонаправленные ассоциации функционально «активной» однонуклеотидной замены rs6259 (Asp327Asn) гена *SHBG* с РМЖ у постменопаузальных женщин Японии (протективное значение GG генотипа) и Бразилии (протективное значение аллеля А) продемонстрированы в исследовании М. Iwasaki и соавт. [27]. По данным метаанализа, проведенного J. Zhou и соавт. на материале 10 исследований, включавших 10 454 больных и 13 111 человек контроля, функционально значимый полиморфный вариант rs6259 (Asp327Asn) гена *SHBG* не связан с риском РМЖ в целом в изучаемой выборке, но имел протективное значение при развитии заболевания у азиатских женщин в постменопаузе [28]. «Защитный» эффект полиморфного варианта rs6259 в азиатской популяции показан и в работе В. Zhang и соавт. на основе анализа выборки из 1144 больных и 1256 человек контроля в популяции Шанхая [29]. Причем наиболее выраженные ассоциации этого SNP с РМЖ зарегистрированы у худощавых женщин (индекс массы тела <23) в постменопаузе [29].

Заключение

В результате исследования установлены особенности ассоциаций полиморфных вариантов генов-кандидатов *SHBG* с РМЖ I–II и III–IV стадий. Полиморфный вариант rs10454142 T>C в гене *PPP1R21* ассоциирован с риском развития РМЖ I–II стадий, причем увеличение количества аллелей C rs10454142 в генотипе женщин привело к повышению риска развития РМЖ I–II стадий на 17–18% на каждый аллель. Ассоциаций полиморфных вариантов генов-кандидатов *SHBG* с риском тяжелого течения заболевания (III–IV стадии болезни) не установлено. В основе выявленных ассоциаций могут лежать значимые функциональные эффекты полиморфного варианта rs10454142 T>C в гене *PPP1R21* и сильно сцепленных с ним SNP, которые находятся в регионах энхансеров и промоторов в эпителиальных и миоэпителиальных клетках молочной железы, печени, влияют на уровень метилирования генома, связаны с уровнем экспрессии гена *GTF2A1L*.

Раскрытие интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Disclosure of interest. The authors declare that they have no competing interests.

Вклад авторов. Авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. Все авторы в равной степени участвовали в подготовке публикации: разработка концепции статьи, получение и анализ фактических данных, написание и редактирование текста статьи, проверка и утверждение текста статьи.

Authors' contribution. The authors declare the compliance of their authorship according to the international ICMJE criteria. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования. Авторы декларируют отсутствие внешнего финансирования для проведения исследования и публикации статьи.

Funding source. The authors declare that there is no external funding for the exploration and analysis work.

Соответствие принципам этики. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом НИУ БелГУ (№4 от 11.04.2012). Одобрение и процедуру проведения протокола получали по принципам Хельсинкской конвенции.

Ethics approval. The study was approved by the local ethics committee of Belgorod State National Research University (protocol № 4 dated 11.04.2012). The approval and procedure for the protocol were obtained in accordance with the principles of the Helsinki Convention.

Информированное согласие на публикацию. Пациенты подписали форму добровольного информированного согласия на публикацию медицинской информации.

Consent for publication. Written consent was obtained from the patients for publication of relevant medical information and all of accompanying images within the manuscript.

Литература/References

1. Gradishar WJ, Anderson BO, Blair SL, et al; National Comprehensive Cancer Network Breast Cancer Panel. Breast cancer version 3.2014. *J Natl Compr Canc Netw*. 2014;12(4):542–90. DOI:10.6004/jnccn.2014.0058
2. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, et al. Cancer statistics for the year 2020: An overview. *Int J Cancer*. 2021;149:778–89. DOI:10.1002/ijc.33588
3. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, 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):209–49. DOI:10.3322/caac.21660
4. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М. 2019 [Zlokachestvennyye novoobrazovaniia v Rossii v 2018 godu (zabolevaemost' i smertnost'). Pod red. AD Kaprina, VV Starinskogo, GV Petrovoi. Moscow. 2019 (in Russian)].
5. Mucci LA, Hjelmborg JB, Harris JR, et al; Nordic Twin Study of Cancer (NorTwinCan) Collaboration. Familial Risk and Heritability of Cancer Among Twins in Nordic Countries. *JAMA*. 2016;315(1):68–76. DOI:10.1001/jama.2015.17703
6. Michailidou K, Lindström S, Dennis J, et al; Association analysis identifies 65 new breast cancer risk loci. *Nature*. 2017;551(7678):92–4. DOI:10.1038/nature24284
7. Lilyquist J, Ruddy KJ, Vachon CM, Couch FJ. Common Genetic Variation and Breast Cancer Risk—Past, Present, and Future. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2018;27(4):380–94. DOI:10.1158/1055-9965.EPI-17-1144
8. Tin Tin S, Reeves GK, Key TJ. 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):126–34. DOI:10.1038/s41416-021-01392-z
9. Chen F, Wen W, Long J, 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):372–80. DOI:10.1002/ijc.34026
10. Fortunati N, Catalano MG, Boccuzzi G, Frairia R. Sex Hormone-Binding Globulin (SHBG), estradiol and breast cancer. *Mol Cell Endocrinol*. 2010;316(1):86–92. DOI:10.1016/j.mce.2009.09.012
11. Qu X, Donnelly R. Sex Hormone-Binding Globulin (SHBG) as an Early Biomarker and Therapeutic Target in Polycystic Ovary Syndrome. *Int J Mol Sci*. 2020;21(21):8191. DOI:10.3390/ijms21218191
12. Dimou NL, Papadimitriou N, Gill D, et al. Sex hormone binding globulin and risk of breast cancer: a Mendelian randomization study. *Int J Epidemiol*. 2019;48(3):807–16. DOI:10.1093/ije/dyz107
13. Павлова Н.В., Орлова В.С., Батлуцкая И.В., и др. Роль высокопенетрантных мутаций в генах BRCA1 и CHEK2 в характере ассоциаций

- ций полиморфизма генов матриксных металлопротеиназ с раком молочной железы. *Научные результаты биомедицинских исследований*. 2022;8(2):180-97 [Pavlova NV, Orlova VS, Batlutskaya IV, et al. 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):180-97 (in Russian)]. DOI:10.18413/2658-6533-2022-8-2-0-4
14. Головченко И.О. Генетические детерминанты уровня половых гормонов у больных эндометриозом. *Научные результаты биомедицинских исследований*. 2023;9(1):5-21 [Golovchenko IO. Genetic determinants of sex hormone levels in endometriosis patients. *Research Results in Biomedicine*. 2023;9(1):5-21 (in Russian)]. DOI:10.18413/2658-6533-2023-9-1-0-1
15. Рак молочной железы. Клинические рекомендации. 2021. Режим доступа: <https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2021/02/rak-molochnoj-zhelezy-2021.pdf>. Ссылка активна на 10.06.2022 [Rak molochnoi zhelezy. Klinicheskie rekomendatsii. 2021. Available at: <https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2021/02/rak-molochnoj-zhelezy-2021.pdf>. Accessed: 10.06.2022 (in Russian)].
16. Coviello AD, Haring R, Wellons M, 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
17. Пономаренко И.В., Полоников А.В., Чурносоев М.И. Ассоциация полиморфизма rs4986938 гена ESR2 с развитием гиперплазии эндометрия. *Акушерство и гинекология*. 2019;4:66-72 [Ponomarenko IV, Polonikov AV, Churnosov MI. Association of ESR2 rs4986938 polymorphism with the development of endometrial hyperplasia. *Obstetrics and Gynecology*. 2019;4:66-72 (in Russian)]. DOI:10.18565/aig.2019.4.66-72
18. Sakaue S, Kanai M, Tanigawa Y, et al. A cross-population atlas of genetic associations for 220 human phenotypes. *Nat Genet*. 2021;53(10):1415-24. DOI:10.1038/s41588-021-00931-x
19. Chen VL, Du X, Chen Y, et al. Genome-wide association study of serum liver enzymes implicates diverse metabolic and liver pathology. *Nat Commun*. 2021;12(1):816. DOI:10.1038/s41467-020-20870-1 [Published correction appears in: *Nat Commun*. 2023;14(1):3356].
20. Pazoki R, Vujkovic M, Elliott J, et al; Lifelines Cohort Study; VA Million Veteran Program. Genetic analysis in European ancestry individuals identifies 517 loci associated with liver enzymes. *Nat Commun*. 2021;12(1):2579. DOI:10.1038/s41467-021-22338-2
21. Hammond GL. Plasma steroid-binding proteins: primary gatekeepers of steroid hormone action. *J Endocrinol*. 2016;230(1):R13-25. DOI:10.1530/JOE-16-0070
22. Balogh A, Karpati E, Schneider AE, et al. Sex hormone-binding globulin provides a novel entry pathway for estradiol and influences subsequent signaling in lymphocytes via membrane receptor. *Sci Rep*. 2019;9(1):4. DOI:10.1038/s41598-018-36882-3
23. Gene Cards. The human gene database. Available at: <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=GTF2A1L>. Accessed: 01.10.2023.
24. Wang J, Zhao S, He W, et al. A transcription factor IIA-binding site differentially regulates RNA polymerase II-mediated transcription in a promoter context-dependent manner. *J Biol Chem*. 2017;292(28):11873-85. DOI:10.1074/jbc.M116.770412
25. Wei Y, Yang X, Gao L, et al. Differences in potential key genes and pathways between primary and radiation-associated angiosarcoma of the breast. *Transl Oncol*. 2022;19:101385. DOI:10.1016/j.tranon.2022.101385
26. Mello AC, Freitas M, Coutinho L, et al. Machine Learning Supports Long Noncoding RNAs as Expression Markers for Endometrial Carcinoma. *Biomed Res Int*. 2020;2020:3968279. DOI:10.1155/2020/3968279
27. Iwasaki M, Hamada GS, Nishimoto IN, et al. Dietary isoflavone intake, polymorphisms in the CYP17, CYP19, 17beta-HSD1, and SHBG genes, and risk of breast cancer in case-control studies in Japanese, Japanese Brazilians, and non-Japanese Brazilians. *Nutr Cancer*. 2010;62(4):466-75. DOI:10.1080/01635580903441279
28. Zhou JY, Shi R, Yu HL, et al. Association between SHBG Asp327Asn (rs6259) polymorphism and breast cancer risk: a meta-analysis of 10,454 cases and 13,111 controls. *Mol Biol Rep*. 2012;39(8):8307-14. DOI:10.1007/s11033-012-1680-2
29. Zhang B, Beeghly-Fadiel A, Lu W, et al. Evaluation of functional genetic variants for breast cancer risk: results from the Shanghai breast cancer study. *Am J Epidemiol*. 2011;173(10):1159-70. DOI:10.1093/aje/kwr004

Статья поступила в редакцию / The article received: 08.10.2023

Статья принята к печати / The article approved for publication: 28.02.2024