Check for updates

Метаболизм эстрогенов, прижизненные нарушения процессов метилирования и рак молочной железы

© Н.Б. Чагай[1,2]*, А.М. Мкртумян[3]

[1]Ставропольский краевой клинический консультативно-диагностический центр, Ставрополь, Россия;
[2]Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Россия;
[3]Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, Москва, Россия

Причиной запуска онкогенеза может быть повышение активности генов, ответственных за инициацию опухолевого роста в стволовых клетках или клетках-предшественниках, а также подавление функционирования генов-супрессоров. Воздействие эндогенных эстрогенов ассоциируется с повышенным риском рака молочной железы (РМЖ) у женщин как в пре-, так и в постменопаузе.

Важнейшим шагом в понимании патогенеза РМЖ явилась теория «переключения» эстрогенного эффекта с гормонального на генотоксический, согласно которой главными виновниками онкогенеза признаны не собственно метаболиты эстрогенов, а их производные, по повреждающим характеристикам соответствующие химическим проканцерогенам. Происхождение упомянутых веществ и формирование генотоксичности эстрогенов кроются в нарушении процесса инактивации катехолэстрогенов в реакциях метилирования.

Основной эпигенетической модификацией генома человека является метилирование молекул ДНК клетки. Метилирование ДНК не изменяет первичной последовательности нуклеотидов, но необходимо для функционального подавления определенных генов. Феномен гипометилирования-гиперметилирования лежит в основе долговременного сайленсинга различных генов, в том числе генов-супрессоров опухолевого роста.

Питание, образ жизни, сопряженный с потреблением сверхдопустимых количеств алкоголя, курением, определяют доступность метильных групп в организме и метаболизм эстрогенов, а также эпигенетические изменения ДНК генома. Актуальной представляется оценка индивидуального риска РМЖ на основе изучения экспрессии и метилирования гена *COMT*, ответственного за метаболизм эстрогенов.

Ключевые слова: эстрогены, рак молочной железы, метилирование, ДНК-метилирование, COMT, алкоголь, курение.

Estrogen metabolism, lifetime methylation disorders, and breast cancer

© Natalia B. Chagay[1, 2]*, Ashot M. Mkrtumyan[3]

[1]Stavropol Regional Clinical Consultative and Diagnostic Center, Stavropol, Russia;
[2]Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia;
[3]Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimov, Moscow, Russia

Oncogenesis can be caused by an increase in the activity of genes responsible for initiating tumor growth in stem or progenitor cells, as well as a reduction in the functioning of suppressor genes. Endogenous estrogen exposure is associated with an increased risk of breast cancer in both pre- and postmenopausal women.

The most important step in the understanding of the pathogenesis of breast cancer was the development of the theory of the switching of estrogen's effect from hormonal to genotoxic, in which the main culprits of carcinogenesis are not chemical metabolites of estrogens, but their derivatives, corresponding to chemical procarcinogens according to their damaging characteristics. The origin of these substances and the formation of estrogen genotoxicity lies in the disruption of the inactivation process of catechol estrogens in methylation reactions.

The main epigenetic modification of the human genome is the methylation of cell DNA molecules. DNA methylation does not alter the primary sequence of nucleotides, but is necessary for the functional suppression of certain genes. The phenomenon of hypomethylation-hypermethylation underlies the long-term silencing of various genes, including tumor suppressor genes.

Nutrition and a lifestyle associated with smoking and the consumption of excessive quantities of alcohol determine estrogen metabolism and the availability of methyl groups in the body, as well as epigenetic changes in the DNA of the genome. The assessment of individual risk of breast cancer on the basis of an assay for the expression and methylation of the COMT gene responsible for estrogen metabolism seems relevant.

Keywords: estrogen, breast cancer, methylation, DNA methylation, COMT, alcohol, tobacco smoke.

Введение

Рак молочной железы (РМЖ) является заболеванием с эпидемической распространенностью, определяющим вторую по частоте после сердечно-сосудистых заболеваний смертность в женской популяции. Доля наследственного РМЖ, обусловленного наличием герминальных (зародышевых) мутаций, составляет 5–15% [1], тогда как в подавляющем большинстве случаев заболевание возникает по причине приобретенных изменений генетического аппарата клетки. Речь идет не только о спорадических мутациях, возникающих в течение жизни. Огромное значение имеют эпигенетические, то есть не затрагивающие последовательность нуклеотидов в ДНК изменения, механизмы регуляции экспрессии генов.

Причиной запуска онкогенеза может быть как повышение активности генов, ответственных за ини-

Copyright © 2019 by the MediaSphere
Licensee: CC BY-NC-ND
doi: 10.14341/probl10070

 DOI: https://doi.org/10.14341/probl10070

циацию опухолевого роста в стволовых клетках или клетках-предшественниках [2], так и подавление всех регулируемых этапов функционирования генов-супрессоров. Дефекты генов-супрессоров, как факторов прогрессии опухолевого роста, рассматриваются в качестве ведущих причин онкопатологии [3].

Воздействие эндогенных эстрогенов ассоциируется с РМЖ у женщин в пре- и постменопаузе [4], причем до 70% всех случаев РМЖ приходится на долю эстроген-рецептор-позитивных (ER+) и прогестерон-рецептор-позитивных (PR+) форм [5]. Однако риск заболевания значимо возрастает в возрасте угасания функции яичников и абсолютного, в сравнении с репродуктивным возрастом, дефицита циркулирующих эстрогенов. Изучение механизмов запуска эстрогенами проонкогенов, причин развития дефектов генов-супрессоров, является одной из самых актуальных задач современной биологии и медицины, поскольку невозможно предположить, что главный атрибут женственности призван активировать карциноидную программу.

Метаболизм эстрогенов

Основным органом биотрансформации эстрогенов является печень, но этот процесс осуществляется и в периферических тканях, в частности, в молочной железе (МЖ). Метаболизм эстрогенов включает 2 основных этапа – гидроксилирование и метилирование.

Процесс гидроксилирования – присоединения ОН-группы к углеродным атомам в различных положениях молекулы эстрогена – приводит к образованию гидроксиэстрогенов – 2-ОН-эстрадиола (2-ОН-Е2), 4-ОН-Е2, 2-ОН-эстрона (2-ОН-Е1), 4-ОН-Е1, именуемых катехолэстрогенами. Название катехолэстрогенов происходит от сходства структуры их А-кольца с диокси-бензольным кольцом катехоламинов. Также в процессе гидроксилирования образуются 16α-ОН-эстрогены. Катехолэстрогены вступают в следующий этап метаболизма – метилирование. При этом 16α-ОН-эстрогены не метилируются, быстро превращаясь в конечный продукт эстриол (Е3) [6, 7].

Главным предназначением метилирования является полная инактивация эстрогенов. Метилированные катехолэстрогены (метокси-эстрогены), а также эстриол, вступают в реакцию конъюгирования с сульфатами или глюкуроновой кислотой. Конъюгация считается реакцией детоксикации, посредством которой гормоны либо становятся водорастворимыми, выделяясь затем с мочой или фекалиями, либо превращаются в более липофильный фрагмент с повышенным периодом полураспада [6].

Ключевая роль в метаболизме эстрогенов принадлежит ферментам семейства P450 (CYP), кодируемым соответствующими генами; 2-гидроксилирование катализируется, главным образом, изоформами CYP1A2 и CYP3A4 в печени и CYP1A1 во внепеченочных тканях [7]. CYP1B1 является ключевым ферментом образования 4-ОН-эстрогенов, но в процессе их синтеза могут участвовать цитохромы 1A2 и 2B1/2 [7]. Ген *CYP1B1* имеет приблизительно 40% гомологическое сходство и некоторую перекрывающуюся метаболическую активность с *CYP1A1* и *CYP1A2*. Однако в отличие от них *CYP1B1* экспрессируется не в печени, а во многих внепеченочных тканях, включая МЖ [8] **(рис. 1)**.

Образование 16α-ОН-эстрогенов контролируется CYP3A4.

Количественно 2-гидроксилирование является основным метаболическим путем по сравнению с реакциями 4- и 16-гидроксилирования. 2-гидроксиэстрогены обладают низкой аффинностью к ER и демонстрируют пониженную гормональную активность, по сравнению с эстрадиолом. Это позволяет исследователям относить их к «антиэстрогенам», поскольку они препятствуют избыточной пролиферации и потенцируют апоптоз [7].

Для 4-ОН-производных характерна низкая скорость выведения из организма, что способствует более продолжительному их воздействию на эстроген-зависимые ткани и теоретически может приводить к усиленной активации ER.

16α-ОН-Е1, несмотря на мощный агонизм к ER и высокую митогенность, относится к слабым канцерогенам, так как превращается в эстриол [7].

Важнейшим шагом в понимании патогенеза РМЖ явилась теория «переключения» эстрогенного эффекта с гормонального на генотоксический, согласно которой главными виновниками развития опухоли признаны не собственно метаболиты эстрогенов, какими бы активными они не были, а их производные, лишенные признаков гормонов, но способные изменять структуру и свойства ДНК, т.е. подходящие под определение химических канцерогенов [9].

Концепция генотоксичности состоит в том, что специфические критические мутации генерируют аномальную пролиферацию клеток, приводящую к раку, но не связанную с запуском эффектов эстрогенов через рецептор. Специфичность этих мутаций определяется образованием интеркалированного комплекса неметаболизированных эстрогенов с ДНК (встраивание между основаниями ДНК) перед конверсией в ковалентную связь [9]. Канцерогенность производных эндогенных эстрогенов распространяется не только на их органы-мишени, но и не зависимые от эстрогенов ткани [10]. Таким образом, естественный процесс эстроген-опосредованной пролиферации ради развития, дифференцировки клеток, репаративного или регенеративного обновления, после запуска канцерогенеза представляется средством поддержания патологических митозов.

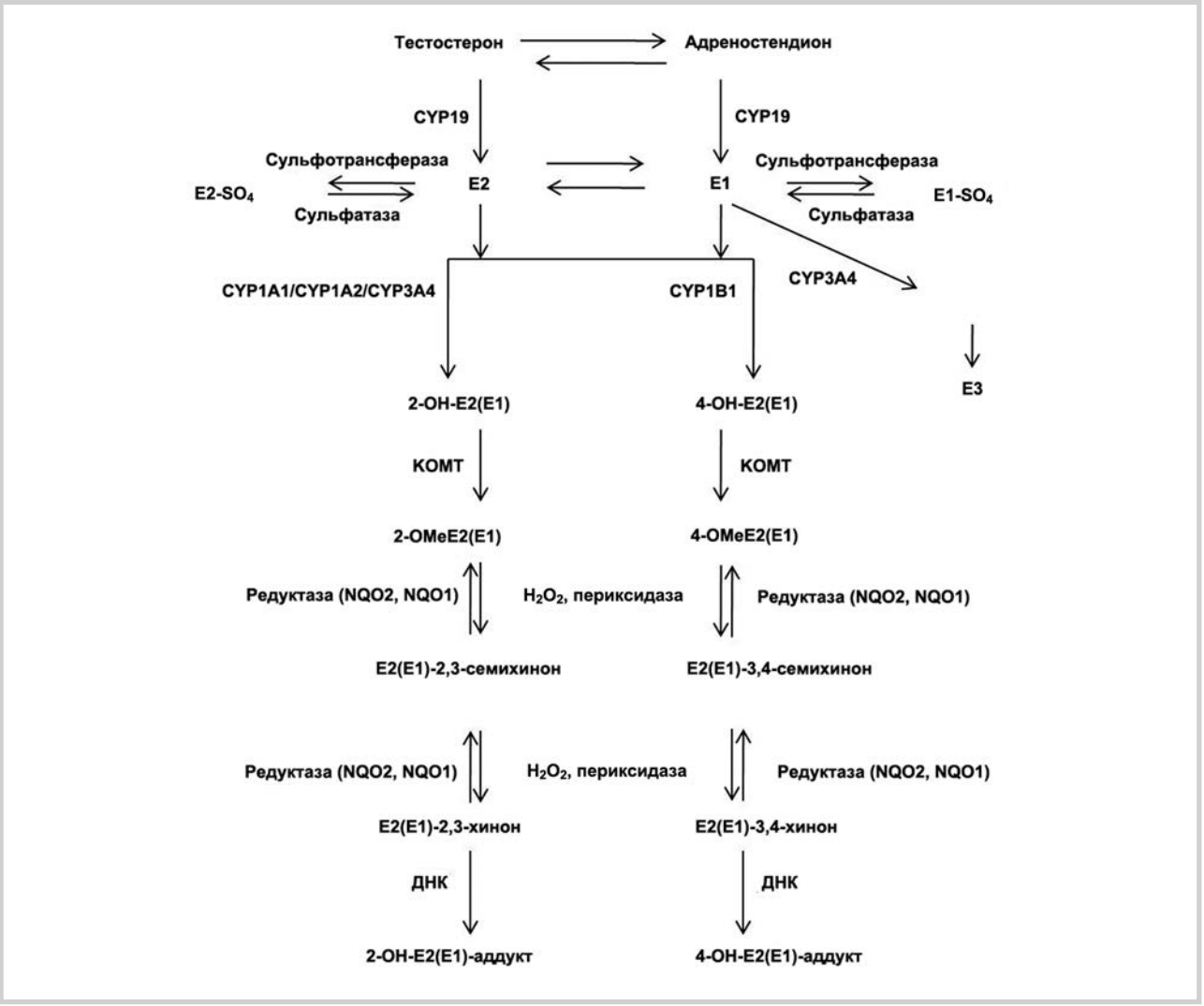

Рис. 1. **Схема синтеза и метаболизма эстрогенов с образованием ДНК-аддуктов (адаптировано из Cavalieri EL, et al. [9]).**

Происхождение упомянутых проканцерогенов и формирование генотоксичности эстрогенов кроется в нарушении инактивации 2- и 4-OH-эстрогенов (катехолэстрогенов) в реакциях метилирования.

Метилирование веществ до их метоксипроизводных (перенос метильных групп -CH3) происходит не только с белками, полисахаридами, фосфолипидами, но и с ДНК и РНК. Этот процесс является главным в дезактивации не только гормонов, но и различных соединений, предназначенных для выведения из организма. Метилирование осуществляют различные ферменты – метилазы (метилтрансферазы). Классическим донатором подвижных метильных групп является незаменимая аминокислота метионин.

Метилирование катехолэстрогенов осуществляется при участии фермента катехол-О-метилтрансферазы (КОМТ), синтез и активность которого кодируются геном *COMT*, расположенным на хромосоме 22q11. S. Dawling и соавт. [11] изучали возможности генов *CYP1A1* и *CYP1B1*, контролирующих синтез 2-, 4-гидроксилаз и, как следствие, образование 2-OH и 4-OH-эстрогенов, вызывать О-деметилирование метоксиэстрогенов, т.е. повторный синтез гидроксиэстрогенов. Оказалось, что метоксиметаболиты ингибируют CYP1A1- и CYP1B1-окисление, не позволяя реактивировать гидроксиметаболиты. Более того, сами метоксиметаболиты оказывают дозозависимый антипролиферативный эффект.

Обязательным условием полноценного метилирования катехолэстрогенов является доступность метильных групп, состоятельность гена *COMT*, а также участие антиоксидантов. При дефиците фермента КОМТ и антиоксидантов [7] катехолэстрогены вовлекаются в образование семихинонов и хинонов. Хиноны опасны своей способностью изменять структуру ДНК, за счет образования так называемых ДНК-аддуктов, что блокирует процесс транскрипции.

 DOI: https://doi.org/10.14341/probl10070

Дериваты 2-катехолэстрогенов (2,3-хиноны) считаются безопасными в отношении канцерогенеза. Они образуют с ДНК стабильные аддукты, сохраняющиеся в молекуле ДНК до полного завершения процесса репарации. Производные 4-катехолэстрогенов (3,4-хиноны) более реактивны и легче взаимодействуют с нуклеофильными группами ДНК. Потеря эстроген-3,4-хиноном протона, быстрое разрушение гликозидной связи в молекуле нуклеотида ДНК и формирование между ними обратимого изомера (реакция сопряженного присоединения Михаэля) – такова модель образования аддукта [9, 12]. 3,4-хиноны высвобождаются от связи с ДНК, оставляя после себя нерепарируемые участки, закрепляя повреждение в последующих поколениях клеток [7] **(см. рис. 1)**.

Известные антиоксиданты, такие как глутатион, N-ацетилцистеин, а также ресвератрол (присутствует в винограде), не только ингибируют образование эстроген-ДНК-аддуктов, но и восстанавливают хиноны и семихиноны до 4-OH-E2 и даже модулируют экспрессию *CYP1B1*, если он сверхактивен [9].

Элиминация эстроген-3,4-хинонов возможна путем конъюгации с глутатионом или путем восстановления катехолэстрогенов с помощью хинонредуктазы (NQO1 и NQO2). Чрезмерное образование депуринирующих аддуктов является результатом грубого нарушения баланса между активирующим и дезактивирующим путями метаболизма эстрогена. Гиперактивация фермента ароматазы (CYP19), приводящая к синтезу эстрогенов *in situ*, сверхэкспрессия сульфатазы, переводящей неактивные сульфатные формы эстрогенов в E2 и E1, нерегулируемая активность CYP1B1 и синтез, прежде всего, 4-OH-производных, низкие концентрации глутатиона при дефиците хинонредуктаз – все это элементы сценария упорного производства хинонов.

В настоящее время профилактика РМЖ основана на маммографическом скрининге, а системный подход в терапии данного заболевания предусматривает иммуногистохимическое определение четырех подтипов РМЖ (люминальный A и B (ER+/PR+), HER2-экспрессирующий и трижды негативный. В настоящей работе анализируется лишь последний этап метаболизма эстрогенов – метилирование, и влияние на него некоторых аспектов образа жизни, т.е. рассматривается профилактика РМЖ через возможное вмешательство в механизмы полной инактивации эстрогенов.

Метилирование полифункционально. Оно охватывает не только нейтрализацию ряда веществ, но и модификацию генов, а значит – их способность к экспрессии. С позиции прижизненных изменений эпигенома, на наш взгляд, небезынтересно рассматривать функциональность самого гена *COMT*, который, с одной стороны, модулирует общее метилирование в организме, а с другой, сам может активироваться или, наоборот, «заснуть» при перепрограммировании генома в условиях дефицита метильных групп. Связь между метилированием промотора *COMT* и когнитивными или психическими нарушениями широко исследуется в настоящее время, поскольку КОМТ контролирует дофаминергическую активность мозга. Подобный подход к изучению метаболизма эстрогенов, возможно, будет способствовать не только защите от онкогенеза, но и безопасности менопаузальной гормональной терапии (с точки зрения ее влияния на ER+ типы РМЖ).

Пути метилирования

При участии фермента метионинаденозилтрансферазы (MAT) из метионина и аденозинтрифосфата (ATP) образуется макроэргическое коферментное производное S-аденозилметионин (SAM) [13]. SAM является донатором метила для 200 метилтрансферазных преобразований ДНК, РНК, белков и метаболитов, вовлечен в широкий диапазон метаболических и сигнальных путей. Метилтрансферазы (MT) катализируют перенос метила на различные акцепторные молекулы (X). После отдачи метильной группы SAM превращается в S-аденозилгомоцистеин (SAH). Далее SAH подвергается гидролизу под действием SAH-гидролазы (SAHH) с образованием гомоцистеина и аденозина. Этот каскад ферментативных реакций, обозначаемый как трансметилирование, происходит практически в каждой клетке человеческого организма.

Гомоцистеин является промежуточным продуктом метаболизма метионина и должен превратиться в цистеин. Гомоцистеин токсичен, содержится в клетках организма в незначительных количествах и может метаболизироваться двумя путями: транссульфирования и реметилирования.

Транссульфирование осуществляется с участием фермента цистатионин-β-синтазы и витамина B_6 в качестве кофактора, что обеспечивает элиминацию до 70% гомоцистеина [14].

Процесс реметилирования в свою очередь проходит по двум независимым друг от друга вариантам: 1) использование метильной группы от молекулы метаболита фолиевой кислоты (5-метилтетрагидрофолата – 5-MTHF), катализируемое метионинсинтазой (MS). При этом промежуточным переносчиком метильной группы выступает витамин B_{12} – метилкобаламин; 2) заимствование метильной группы от молекулы бетаина (активный метаболит поступающего с пищей витамина B_4 – холина) при участии фермента бетаин-гомоцистеин-метилтрансферазы (BHMT). При отклонениях в системе фолатного цикла и недостатке витамина B_{12}, восстановление метионина за счет бетаина становится основным [15] **(рис. 2)**.

Для процессов метилирования совершенно необходимо присутствие в тканях организма переносчиков -CH_3-групп. Таковыми являются витамины

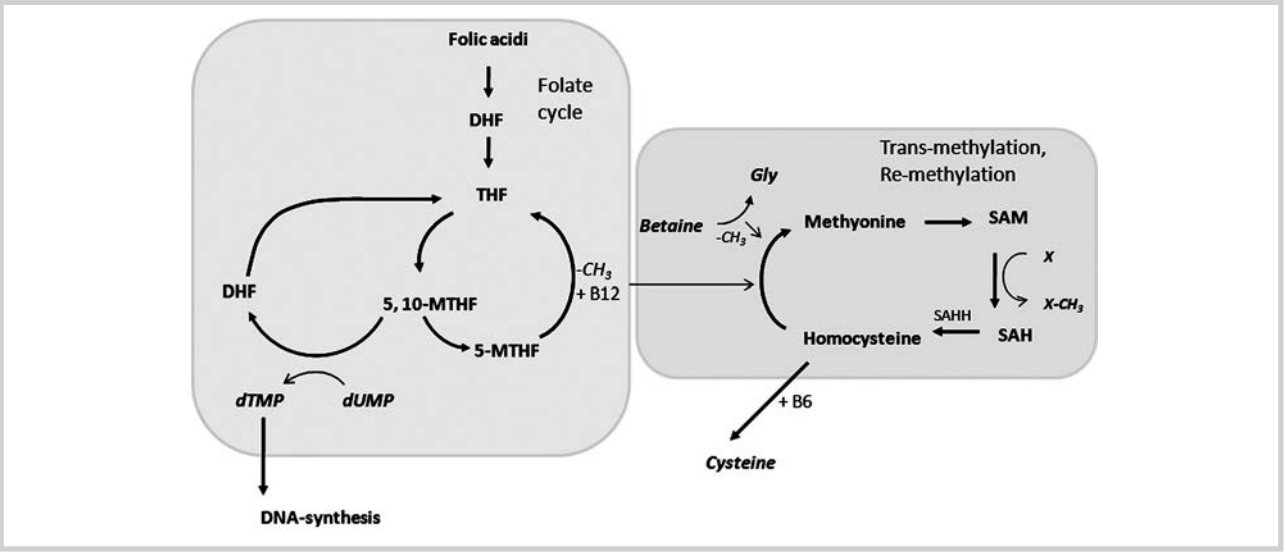

Рис. 2. **Цикл фолиевой кислоты (адаптировано из S. Lu, et al. [13]).**

Поступление фолата с пищей, восстановление фолата до дигидрофолата (DHF) и, далее, до тетрагидрофолата (THF); 2) образование из THF 5,10-метилентетрагидрофолата (5,10-MTHF), сопряженное с распадом серина или глицина; 3) восстановление 5,10-MTHF до 5-MTHF с последующей регенерацией метионина из гомоцистеина и одновременным превращением 5-MTHF в THF. Ген *MTHFR* кодирует синтез фермента метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR), катализирующей восстановление 5,10-MTHF в 5-MTHF. Ген *MTRR* кодирует синтез фермента метионин-синтазы-редуктазы (MSR), катализирующей обратное превращение гомоцистеина в метионин. Метильная группа переносится на витамин B12, который затем отдает ее гомоцистеину, образуя метионин с помощью MS. Ген *MTR* кодирует цитоплазматический фермент MS. Однако в некоторых случаях B12 может окисляться, что приводит к подавлению MS. Для поддержания активности фермента необходимо восстановительное метилирование с помощью фермента MSR. В норме образование dTMP из dUMP сопряжено с превращением 5,10-MTHF в DHF; в этой реакции одна углеродная группа 5,10-MTHF переносится в молекулу dUMP, что приводит к образованию dTMP и DHF. dUMP является важнейшим соединением, необходимым для синтеза любой клеточной ДНК. DHF под влиянием DHF-редуктазы (DNFR) также восстанавливается до THF (адаптировано из M. Varela-Rey, et al. [32]).

группы B, в том числе фолиевая кислота (витамин B9). Пищевыми источниками метионина являются бразильский орех, яйца, мясо, молоко, рис, рыба; фолиевой кислоты и холина – зелень, цитрусовые, бобовые, пшеница; бетаина – рис, ячмень, сахарная свекла, бобовые, овес, картофель.

Акторами, определяющими статус общего метилирования в организме, являются абсолютный дефицит и сезонные колебания пищевых донаторов метила. Существенно нарушаются процессы метилирования при ожирении в связи с развитием стеатоза печени, нарушением адипокиновой регуляции активности КОМТ при одновременном повышении потребности в экспрессии *COMT* [16]. Интерес представляет изучение доступности метильных групп при употреблении сверхдопустимых количеств алкоголя, курении, хроническом стрессе, поскольку речь идет о модифицируемых пусковых факторах нарушения метаболизма эстрогенов.

Метилирование ДНК

Тотальное ДНК-гипометилирование

В настоящее время ключевыми механизмами канцерогенеза, в том числе в МЖ, признаны изменения не структуры, а активности генов протоонкогенов, генов-супрессоров. Основной эпигенетической модификацией генома человека является метилирование молекул ДНК клетки. Очевидно, что если термин «метилирование» употребляется по отношению к ДНК генома, то он не ассоциируется с детоксикацией в прямом смысле слова. Эпигенетические изменения могут передаваться по наследству, но, в отличие от генетической информации, воспроизводятся в 3–4 поколениях, исчезая при неустойчивом внешнем факторе [17].

Метилирование ДНК – это добавление метильной группы непосредственно к цитозиновому основанию в матрице ДНК с образованием 5-метилцитозина. Метилирование ДНК не изменяет первичной последовательности нуклеотидов, но необходимо для функционального подавления (сайленсинга) определенных генов. Реакции метилирования ДНК катализируются группой ферментов ДНК-метилтрансфераз (DNMT).

Энзиматическое метилирование остатков цитозина по пятому положению осуществляется в составе 5/-CpG динуклеотидов (CpG-сайтов). Около 60–70% всех CpG-динуклеотидов у млекопитающих метилированы. Неметилированные CpG-динуклеотиды сгруппированы в так называемые «CpG-островки», обнаруживаемые на промоторах большинства генов человека.

Долговременный сайленсинг гена может быть обеспечен метилированием района островков CpG. Цитозины CpG островков постоянно экспрессируемых генов неметилированы, тогда как CpG в регулируемых генах могут быть метилированными или неметилированными, что коррелирует с уровнем транскрипции гена [18]. Таким образом, метилирование

 DOI: https://doi.org/10.14341/probl10070

ДНК является динамичным процессом, изменяющимся под влиянием факторов внутренней и внешней среды.

Глобальное гипометилирование ДНК, сопровождаемое повышением экспрессии ряда генов, является характерным признаком старения организма. Задачей гипометилирования ДНК является индукция клеточной трансформации, активация регенераторных процессов после воздействия каких-либо повреждающих факторов [18]. Однако гипометилирование ДНК вследствие дефицита CH_3-групп может происходить в отдельных локусах или на протяженных участках хромосомы и запускать процесс развития опухолей. На уровне индивидуальных генов гипометилирование ДНК запускает многоэтапный неопластический процесс благодаря активации протоонкогенов, дерепрессии ранее метилированных генов, вызывающих аберрантные функции клеток [19]. Причины нарушения нормальных процессов метилирования требуют уточнения.

Важно, что как в нормальных стареющих клетках, так и в опухолевых культурах на фоне тотального гипометилирования обнаруживаются гиперметилированные CpG-островки в промоторных участках отдельных генов. Метилирование считается стабильной и наследуемой модификацией гена, хотя в его обратимости под воздействием деметилирующих агентов или ферментов заключается одно из принципиальных отличий данного процесса от мутаций в ДНК [18]. Если гиперметиляции подвергаются гены-супрессоры опухолей, снижается их экспрессия, а значит, становится очевидным риск канцерогенеза.

Четких объяснений неодинаковой чувствительности динуклеотидных островков к метилированию в настоящее время не получено. В эксперименте показано, что в клетках в условиях искусственно созданной избыточной экспрессии DNMT часть CpG-островков становятся гиперметилированными, а другие (большинство) – не метилируются вообще. Возможно, избирательная чувствительность к DNMT объясняется неодинаковой готовностью гена к экспрессии в клетках разной степени дифференцировки [18]. Пусковые механизмы локального гиперметилирования ДНК, приводящие к устойчивой инактивации гена, также не ясны. Повышение метилтрансферазной активности [20] может быть адаптационной мерой, формирующейся в условиях аномального (возможно, продолжительного) гипометилирования. Исходя из этой гипотезы, можно полагать, что раннее предупреждение гипометилирования проапоптотических генов, генов-супрессоров опухолей предотвращает их последующее компенсаторное гиперметилирование и может быть независимой мерой профилактики ряда заболеваний, в том числе РМЖ.

Остается неизвестным, является ли процесс гиперметилирования первопричиной, ответственной за сайленсинг целевых генов опухолевой супрессии. D. Sproul и соавт. [21] провели анализ CpG-островков промоторов генов опухолевой супрессии в различных типах рака. Оказалось, что гены, которые уже подвергнуты гиперметиляции, супрессированы не только в опухолевой, но и в здоровой ткани, причем задолго до развития неоплазии. Аберрантное гиперметилирование в большей мере отражает онтогенетическое развитие клетки и вовлеченность эпигенетических механизмов в поддержание активности тех или иных генов в здоровой клетке. В частности показано, что статус метилирования ДНК у новорожденных детей определяется воздействием в период внутриутробного развития на их организм табака [22] и высокожирного питания матери [23].

N. Bloushtain-Qimron и соавт. [24] нашли, что воздействие эстрогенов на еще незрелые, недифференцированные эпителиальные клетки МЖ сопряжено с увеличением риска РМЖ во взрослом состоянии. Несколько генов, вовлеченных в дифференцировку стволовой клетки, гипометилированы и имеют чрезвычайно высокий уровень экспрессии в прогениторной клетке, в сравнении с высокодифференцированной. Иными словами, еще на уровне стволовой клетки, обладающей способностью к самовоспроизводству, закладывается более ощутимая реакция на эстрогеновый стимул. Запечатление (импринтинг) эффектов эстрогенов объясняет участие в канцерогенезе таких факторов, как срок менархе, завершенные беременности, время наступления постменопаузы. Обобщенное мнение исследователей таково, что риск РМЖ накапливается на протяжении всей жизни женщины, однако быстрое возрастание этого риска происходит после начала эстрогенизации [25].

Известно, что активность КОМТ в тканях человека неодинакова и изменяется с возрастом [26]. Модуляция метилирования ДНК гена *COMT* является одной из задач профилактики РМЖ.

Большое количество исследований было посвящено однонуклеотидному полиморфизму *COMT* Val158Met, который является наиболее изученным вариантом из-за его местоположения в кодирующей области экзона 4 [16]. Замещение метионина (Met) на валин (Val) в положении 158 приводит к трехчетырехкратному подавлению активности фермента КОМТ из-за снижения стабильности белка. В то же время эпигенетическая вариация, дифференцированное метилирование множественных локусов гена *COMT* ассоциируется с социально-экономическим статусом, стрессом, этнической принадлежностью, потреблением алкоголя и табака [26].

Таким образом, огромный интерес представляют исследования в области влияния факторов окружающей среды на активность синтеза КОМТ, как регулятора детоксикации. Гиперметилирование самого *COMT* вызовет его «молчание», то есть нарушение полноценного метаболизма многих молекул. Новое направление современной медицины предполагает

детальный анализ всех метилированных последовательностей генома (метилом), поскольку ДНК-метилирование генов промитогенной и проапоптотической направленности прогностически важно для оценки индивидуального онкориска.

Образ жизни и метилирование

Питание и образ жизни, сопряженный с потреблением сверхдопустимых количеств алкоголя, курением, ожирением [16], определяют доступность метильных групп в организме и эпигенетические изменения ДНК генома. Абсолютный дефицит донаторов и переносчиков метила (метионина, холина, витамина B12 и фолиевой кислоты), а также возраст и другие факторы онтогенеза ассоциированы с фенотипическими геномными различиями [13].

Развивающаяся область исследований, называемая нутригеномикой, изучает влияние пищи на геном человека с целью профилактики ряда заболеваний. Недостаток или избыток источников -CH_3 отражается на поступлении SAM в цикл метионина. Гипометиониновая (гипохолиновая) диета сопровождается снижением печеночного запаса SAM, а колебания уровней SAM, SAH и гомоцистеина определяют потенциал метилирования всех SAM-зависимых молекул [13]. Метильные группы необходимы для образования фосфатидилхолина в печени, обеспечивающего «сборку» ЛПОНП и выведение триглицеридов в кровоток [27]. Таким образом, дефицит SAM ответственен за нарушение синтеза ЛПОНП, сопровождается инфильтрацией печени триглицеридами и в конечном итоге ассоциируется с манифестацией или прогрессированием неалкогольной жировой болезни печени [16].

При развитии стеатоза печени ожидается подавление продукции SAM. Однако A. Elshorbagy и соавт. [28], напротив, отмечают усиление конверсии метионина в SAM, что, по всей видимости, определяется индивидуальными особенностями печеночного метаболизма. В условиях нарушенного поступления метионина, важным является присутствие бетаина, поскольку он предотвращает не только дефицит общего метилирования, но и гипометилирование ДНК [15].

Перенасыщение пищевыми источниками метила у трансгенных мышей также сопровождалось развитием жировой дистрофии печени. Чрезмерное употребление метионина коррелировало с уровнями SAM, SAH [28], с риском проявления генотоксичности. Однако схожее исследование с применением супрафизиологических концентраций метионина не подтвердило влияния гиперметионинемии на геномную стабильность и статус метилирования ДНК [29]. Вероятно, разумные (некритические) колебания поступления метионина с пищей могут быть «откорректированы» механизмами адаптации, реализуемыми до определенного предела.

Алкоголь и канцерогенез

Международное агентство по изучению рака (International Agency for Research on Cancer) сообщило, что к 2010 г. более 100 эпидемиологических исследований оценили связь между потреблением алкогольных напитков и риском развития РМЖ [30]. Комбинированный анализ данных 53 из этих исследований показал четкую прямую зависимость РМЖ от дозы потребления алкоголя [31]. Так, малые концентрации алкоголя (⩽1 напитка в день – 10 г алкоголя) увеличивают риск РМЖ от 4 [32] до 10% [25]. Результаты британского исследования с участием 1 280 296 женщин пре- и постменопаузального возраста свидетельствуют, что увеличение ежедневного количества потребляемого алкоголя еще на 1 напиток повышает риск до 12% [33]. Данные проспективного когортного исследования 2016 г. во Франции с включением 67 634 женщин интересны тем, что указывают на значимые ассоциации алкоголя с риском РМЖ только у женщин постменопаузального, но не пременопаузального возраста [34]. Это означает, что механизм запуска канцерогенеза этанолом нуждается в детализации в целях четкого определения групп риска.

В эксперименте показано, что этанол в период полового созревания стимулирует морфологические изменения в МЖ, в частности, усиливает ветвление протоков, пролиферацию эпителия и приводит к повышению маммарной плотности [35]. Частота пролиферативных (предраковых) форм доброкачественной дисплазии МЖ (ДДМЖ) прямо коррелирует с употреблением алкоголя. Риск до первой беременности увеличен на 26% при ежедневном потреблении 5,0–14,9 г (~0,5–1,5 напитка) и на 39% при дозе ⩾15 г.

Частота РМЖ на каждые 10 г алкоголя в сутки возрастает на 14% среди женщин, у которых интервал между менархе и первой гестацией составил 10–14 лет. Если данный временной промежуток увеличен до ⩾15 лет (т.е. начало интоксикации приходится на более молодой возраст), распространенность заболевания существенно возрастает и составляет 25% [36]. Таким образом, воздействие алкоголя до первой беременности способно привести к морфологическим изменениям в тканях МЖ, предрасполагающим к канцерогенезу в дальнейшем. Более длительное воздействие этанола в течение восприимчивого периода существенно повышает возможность неотрансформации тканей. Раннее потребление алкоголя ассоциируется с более высоким риском развития РМЖ.

Этанол как токсин и промитогенный фактор

Метаболизм этанола до ацетальдегида, являющийся по существу этапом его активации, происхо-

 DOI: https://doi.org/10.14341/probl10070

дит не только в печени, но и в цитозоле и микросомах эпителия МЖ. Мутагенность и канцерогенность ацетальдегида как токсического вещества не подвергается сомнению. Концентрации данного органического соединения в ткани МЖ превышают таковые в плазме и в печени, пик их сохраняется до 15 ч при употреблении высокой дозы, 6 ч – при употреблении средней и 2 ч – при употреблении низкой дозы алкоголя. И, что наиболее важно, уровень продукта деградации спирта в плазме одинаков для всех трех доз этанола, т.е. печень способна быстро элиминировать этанол, чего нельзя сказать о МЖ [37]. Последствия накопления ацетальдегида в МЖ в течение длительного времени при его взаимодействии с ДНК, ядерными белками, липидами неблагоприятны. Результатом взаимодействия ацетальдегида с ДНК также является образование ее аддуктов, поэтому трактуется как процесс истинного канцерогенеза [38].

Этанол вовлекает ткани как печени, так и МЖ [37] в оксидативный стресс [32], т.е. создает дисбаланс между окислителями и антиоксидантами в пользу первых. Ответом на возникшее нарушение является повышение содержания в клетке реактивных форм кислорода, способных инициировать образование гидроперекисей. Радикалы, образующиеся при перекисном окислении липидов, повреждают молекулы ядерной и митохондриальной ДНК.

Задержка метаболизма и увеличение сывороточных концентраций эстрогенов [32] объясняется прямым повреждением гепатоцитов агрессивными производными этанола и развитием воспаления и цитолиза. Проблемой нарушенного метаболизма, помимо абсолютной гиперэстрогении, становится накопление гидроксиметаболитов и незавершение реакций их метилирования. Таким образом, замыкается порочный круг опосредованной алкоголем гиперэстрогенизации – повышение концентраций генотоксичных производных катехолэстрогенов [37].

Причиной депрессии метилирования является снижение печеночных запасов SAM. Во-первых, это инактивация MAT и чрезмерное расходование печенью SAM на дезинтоксикацию и процессы восстановления от окислительного стресса. Во-вторых, подавление синтеза эндогенного метионина ввиду несостоятельности реметилирования гомоцистеина. Причиной последнего является развивающийся дефицит фолиевой кислоты и бетаина вследствие их активного использования при одновременном нарушении депонирования [39]. Поэтому применение с лечебно-профилактической целью препаратов на основе фолиевой кислоты или SAM кажется вполне логичным.

В норме экспрессия стероидных рецепторов и пролиферация эпителиальных клеток МЖ наблюдаются в разных клеточных популяциях. Клетки, содержащие ERα, неизменно снабжены прогестероновыми рецепторами (PR). Эстрогены стимулируют биосинтез PR. ERα ответственны за эстроген-индуцированную пролиферацию эпителия МЖ, однако пролиферирующие эпителиальные клетки не экспрессируют ни ERα, ни PR. ERα/PR-положительные эпителиоциты чувствительны к воздействию стероидных гормонов и оказывают воздействие на пролиферативную деятельность смежных ERα/PR-негативных эпителиоцитов. И ERα, и ERβ могут самостоятельно обеспечивать пролиферацию эпителия МЖ. ERα при воздействии эстрогенов передают сигнал к запуску клеточной пролиферации, после чего биосинтез ER на время прекращается. После запуска пролиферация находится под контролем ERβ. Функция ERβ, постоянно находящихся в ядре клетки, заключается также в обеспечении повторного синтеза ERα, т.е. в восстанавлении чувствительности эпителиоцита к эстрадиолу [40].

Процессы пролиферации протокового и альвеолярного эпителия связаны с прогестерон-зависимыми факторами роста [40].

Q. Zhang и соавт. [41] показали, что этанол 10–15-кратно увеличивает экспрессию генов ERα, с последующим усилением эффекта факторов транскрипции, ответственных за фенотипическую реализацию эффектов гормона.

Алкоголь ассоциируется с повышением риска как ER+/PR–, так и ER+/PR+ форм РМЖ, но не с ER–/PR– РМЖ [36]. В отличие от нормальной МЖ, эпителиоциты, обнаружившие склонность к канцерогенезу, способны одновременно и синтезировать рецепторы, и делиться [40]. Это означает, что корреляция ER+ и/или ER+/PR+ форм РМЖ с потреблением этанола объясняется усилением естественных процессов митотического деления на фоне гиперэстрогении и гиперкатехолэстрогении, но при наличии необратимых изменений в клеточной ДНК.

Влияние алкоголя на паттерны глобального и локального метилирования ДНК, вероятно, опосредованы его способностью снижать концентрации SAM, истощением запасов фолиевой кислоты, а также ингибированием основных ферментов одноуглеродного метаболизма [39].

В настоящее время предполагается существование двух основных механизмов канцеропромоции на фоне снижения уровня фолата: повышенная нестабильность ДНК и аберрантные образцы метилирования ДНК. Доказано, что при дефиците 5,10-MTHF тормозится процесс трансформации дезоксиуридинмонофосфата (dUMP) в дезокситимидина монофосфат (dTMP). В результате dUMP накапливается и затем избыточно интегрируется в новые молекулы ДНК, приводя к их повреждению (однонитевой или двунитевой разрыв молекулы) **(см. рис. 2)**.

Большинство повреждений ДНК может быть исправлено в ходе репарации. Однако некоторые повреждения, а именно двунитевые разрывы, могут привести к эпигенетическим изменениям в виде ме-

тилирования окружающей ДНК и, как следствие, к «замолканию» гена. Также доказано, что эффекты алкоголя включают ингибирование активности и экспрессии ферментов, участвующих в ДНК-метилировании [32].

Фолат и канцеропротекция

Известно, что у больных с мутациями генов *MTHFR*, *MTR*, *MTRR* нарушена система фолатного цикла **(см. рис. 2)**, что сопровождается гипергомоцистеинемией и дефицитом метильных групп и сопряжено с изменениями эстрогенового метаболизма. Связь между распространенной гомозиготной мутацией C677T гена *MTHFR* [42] и риском РМЖ неоднозначна. В частности, S. Zhong и соавт. [43] не обнаружили значимых ассоциаций РМЖ с наиболее распространенным вариантом полиморфизма гена *MTHFR* – A1298C. Однако метаанализ 35 исследований (19 527 случая) выявил четкую корреляцию данного варианта полиморфизма гена *MTHFR* с риском развития РМЖ и/или яичников [44].

По данным метаанализов, известные мутации A2756G гена *MTR* [43] и A66G гена *MTRR* [45] в азиатской популяции не коррелируют с частотой РМЖ. В то же время данные метаанализа 11 опубликованных исследований (8438 наблюдений [46] указывают на повышение восприимчивости к раку МЖ среди европейцев с распространенным вариантом полиморфизма гена *MTR*.

Различные популяции мира имеют выраженную генетическую гетерогенность по частоте генотипов и аллелей C677T и A1298C полиморфизмов гена *MTHFR*, генов *MTR*, *MTRR*. Особого внимания заслуживает персонифицированная оценка риска РМЖ у больных с полиморфизмом генов фолатного цикла (с учетом модифицируемых факторов эпигенетического воздействия).

Связь метаболизма фолата с процессом реметилирования обязательно должна учитываться в программе реабилитации печеночного метаболизма после воздействия этанола. Имеется вариабельность депрессии печеночного метаболизма под влиянием «допустимых» и «токсических» доз алкоголя. Эпидемиологические данные о связи между применением фолатов с протективной целью и риском развития РМЖ у лиц, потребляющих алкоголь, весьма противоречивы. В частности, метаанализ перспективных когортных исследований (24 083 пациентки с РМЖ) показал, что прием фолата в дозе 220 мкг в день не оказывает существенного влияния на риск заболевания [RR 0,98 (0,90–1,05)] [47]. Другой метаанализ [48] продемонстрировал значительное снижение частоты РМЖ при применении фолиевой кислоты в дозе 153–400 мкг.

Таким образом, этиловый спирт в высоких дозах и/или при длительном применении прямо нарушает процессы клеточной жизнедеятельности, включая цикл метионина. Этанол является генетическим токсином для ДНК клеток всего организма, включая ткани МЖ. Именно поэтому физиологическая или алкоголь-ассоциированная гиперэстрогения вызывает усиление митозов в клетках с уже мутировавшей ДНК. Канцерогенность определяется несостоятельностью репарации и закреплению повреждений ДНК (мутаций) в следующих поколениях клеток. Эстрогены, как естественные регуляторы процессов пролиферации поддерживают митозы в клетках с измененной ДНК.

Полноценный метаболизм эстрогенов является важным условием предупреждения генетической токсичности метаболитов эстрогенов (трансформации их в хиноны). Нутритивная поддержка донаторами метильных групп и их переносчиков – фолиевой кислоты, витамина B12, бетаина, по-видимому, защищает от генотоксичности. Очень важным является изучение ассоциации потребления алкоголя с риском формирования доброкачественной патологии МЖ, с риском развития у этих же пациенток РМЖ после наступления менопаузы. Определение сывороточных концентраций фолиевой кислоты, витамина B12, связь этих параметров с активностью КОМТ представляет интерес для оценки индивидуального риска канцерогенеза МЖ. Остается открытым вопрос относительно интрамаммарной вариабельности экспрессии гена *COMT* как прогностического фактора у пациенток репродуктивного возраста с пролиферативными формами доброкачественной дисплазии МЖ.

Курение и метилирование

Результаты исследований [49] свидетельствуют о том, что как активное, так и пассивное курение ассоциируются с увеличением риска РМЖ. Механизмы такой зависимости представляют немалый интерес, поскольку раскрытие их не только позволило бы мотивировать курильщиц на модификацию образа жизни, но и разработать меры профилактики заболевания для женщин, непроизвольно вдыхающих табачный дым.

Табачные алколоиды – никотин, котинин и их дериваты – изменяют метаболизм стероидов. В эксперименте *in vitro* доказана способность токсинов табака подавлять синтез эстрогенов путем снижения активности фермента ароматазы как в клетках гранулезы яичников, так и в клеточных линиях РМЖ [5]. Более того, исследование Health Study II (1996–1999 гг.) с участием 603 женщин пременопаузального возраста подтвердило снижение продукции эндогенных эстрогенов, правда, только в лютеиновую фазу менструального цикла. Концентрации 16-OH-метаболитов у курильщиц были значимо ниже, чем у некурящих, что могло бы рассматриваться как благоприятный фактор прогноза РМЖ. Однако эти данные не позволяют соотнести курение со снижением

 DOI: https://doi.org/10.14341/probl10070

риска РМЖ, поскольку воздействие табачного дыма сопровождается изолированным и значительным повышением проонкогенных 4-ОН-метаболитов эстрогенов [50].

J. Peng и соавт. [51] показали, что возрастание концентрации 4-ОН-эстрогенов происходит за счет 2,3-кратного увеличения экспрессии гена *CYP1B1*. Также отмечается снижение уровня мРНК *COMT* в 3,1 раза, т.е. имела место задержка трансформации 4-ОН-метаболита эстрогена в его метоксипроизводное. Никаких существенных изменений уровня мРНК *CYP1A1* после воздействия табачного дыма не наблюдалось. Таким образом, потребность в активации гена *COMT* при курении резко возрастает, но его экспрессия не повышается, а подавляется.

Интересно, что тропность алкалоидов табака (в частности, никотина) к ацетилхолиновым рецепторам обеспечивает дополнительное абсолютное увеличение продукции катехоламинов (дофамина [52] и конечного продукта – адреналина [53]), конкурирующих с эстрогенами за метильные группы. КОМТ может инактивировать четырехкратно повышенные концентрации дофамина и катехоламинов в разнообразных клеточных культурах (нейроглии, фибробластах кожи) [54]. Подострое (повторяющееся) введение дофамина может сопровождаться быстрым метаболизмом этого нейромедиатора вследствие усиления экспрессии гена *COMT* и возрастания концентрации соответствующего фермента [55]. Это означает, что существует возможность компенсаторной реакции на гиперсекрецию катехоламинов и на сверхфизиологическую секрецию 4-гидроксиэстрогенов при длительном курении. Продолжительность такой адаптации требует изучения.

Таким образом, курение изменяет эстрогенную насыщенность организма, метаболизм эстрогенов, общий статус метилирования. «Обкрадывание» метилирования эстрогенов в условиях гиперкатехоламинемии может рассматриваться в качестве одного из факторов риска эстрогенопосредованной стимуляции рецепторов органов-мишеней и, соответственно, развития эстрогензависимых опухолей. Вопрос о возможностях резервной экспрессии гена *COMT* и ее связи с развитием любых форм дисплазии МЖ при хронической интоксикации катехоламинами остается открытым.

Природа относительного подавления гена *COMT* при курении вызывает значительный интерес. Предполагается, что «пассивность» *COMT* развивается по причине патологического гиперметилирования гена. Подтверждение этой гипотезы получено Q. Xu и соавт. [56], обнаруживших усиление метилирования CpG динуклеотидов в промоторной области гена *COMT*. Авторы связывают развитие никотиновой зависимости с ослабленностью экспрессии *COMT*.

Окислительный стресс, вызываемый табачным дымом, сопровождается широким спектром структурных повреждений ДНК. Такие нарушения приводят к дефекту связывания DNMT с собственно молекулой ДНК и, в итоге – к глобальному гипометилированию [57]. Как было показано выше, длительное гипометилирование формирует потребность гена в избирательном, но практически необратимом гиперметилировании. Действительно, к числу наиболее активных канцерогенов табачного дыма относятся так называемые полициклические ароматические углеводороды (ПАУ). Вызываемое ПАУ образование ДНК-аддуктов сочетается с аберрантным генспецифическим метилированием генов-супрессоров опухолей, в частности *RARβ* и *APC* и ассоциируется с заболеваемостью РМЖ [58].

Курение при беременности вносит дисрегуляцию в геном плода, в частности, в статус метилирования генов защиты от ксенобиотиков. Арил-гидрокарбоновый рецептор (AHR) – особый вид ядерных рецепторов, экспрессия которого индуцируется под действием наиболее распространенных в окружающей среде ПАУ и запускает транскрипцию генов системы детоксикации (*CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP1B1* и *NQO1*). Активация AHR под влиянием табачного дыма приводит к избыточному накоплению высоко реактивных метаболитов эстрогенов. Репрессор арил-гидрокарбонового рецептора (AHRR) экспрессируется в различных тканях организма и ингибирует AHR-сигнальный путь. Материнское курение приводит к внутриутробному усилению метилирования гена *CYP1A1* на 2–7% и ослаблению метилирования *AHRR* на 3–8% [59], что может трактоваться как защита плода от сверхпродукции агрессивных цито- и генотоксичных молекул, в том числе производных эстрогенов.

Возможно, как и в случае с длительной интоксикацией алкоголем, продолжительное воздействие табака приводит к изменению ДНК стволовой клетки. Так, C. Breton и соавт. [57] показали, что влияние табачного дыма на детей в период пренатального развития изменяет метилирование ДНК различных генов. Отмечена активация метилирования гена рецепторной тирозинкиназы *AXL,* в норме способствующего антиапоптозу, митогенезу, инвазии и выживанию клеток, и уменьшение метилирования гена *AluYb8*, играющего роль модулятора апоптотического пути. Однако тотальное гиперметилирование сопряжено с сайленсингом не только генов-активаторов митозов, но и генов противоопухолевой защиты. Поэтому обнаруженные W. Besingi и соавт. [60] значимые ассоциации ДНК-гиперметилирования таких генов-супрессоров под влиянием компонентов табачного дыма у взрослых могут рассматриваться в качестве звеньев одной цепи гипометилирования-гиперметилирования.

Анализ изменений ДНК-метилирования в эмбрио- и онтогенезе чрезвычайно важен с точки зрения прогноза и ранней диагностики онкогенеза. Из-

учение механизмов воздействия на экспрессию генов ряда внешних факторов является одним из наиболее перспективных направлений персонализированной медицины.

Заключение

РМЖ является самым распространенным опухолевым заболеванием в женской популяции. Доказательства отрицательного влияния на геном и эпигеном образа жизни с чрезмерным потреблением алкоголя и курением весьма убедительны. Длительное воздействие токсинов любого происхождения может повреждать ДНК клетки. Наличие промитогенных мутаций ДНК при поддержке естественных регуляторов пролиферации – эстрогенов создает базу для формирования опухолевого процесса. Дефицит метилирования эстрогенов лежит в основе гиперактивации эстроген-опосредованного клеточного деления. Обкрадывание процесса метилирования ДНК лежит в основе феномена «гипометилирования-гиперметилирования» – ведущей причины пассивности генов супрессоров опухолевого роста, а также гена *COMT*, ответственного за полную инактивацию эстрогенов. Профилактика РМЖ требует поиска абсолютных маркеров канцерогенеза на основе изучения не только фенотипа генов-супрессоров пролиферации, но и генов, контролирующих метаболизм эстрогенов. Интерес представляет оценка индивидуального риска злокачественной патологии МЖ на основе изучения экспрессии и метилирования гена *COMT*.

Дополнительная информация

Источник финансирования. Поисково-аналитическая работа проведена на личные средства авторского коллектива.
Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, связанного с публикацией настоящей статьи, в том числе в связи со сбором, анализом и интерпретацией данных.
Участие авторов: оба автора внесли равный вклад в проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию до публикации.

ЛИТЕРАТУРА | REFERENCES

1. Сытенкова К.В., Поспехова Н.И., Поддубная И.В., Любченко Л.Н. Клинические особенности различных генотипических вариантов при наследственном и спорадическом раке молочной железы. // Российский биотерапевтический журнал. – 2011. – Т. 10. – №2. – С. 3-12. [Sytenkova KV, Pospekhova NI, Poddubnaya IV, Lyubchenko LN. Clinical features of different genotypic variants, associated with hereditary and sporadic breast cancer. *Rossiiskii bioterapevticheskii zhurnal*. 2011;10(2):3-12. (In Russ.)]
2. Timp W, Feinberg AP. Cancer as a dysregulated epigenome allowing cellular growth advantage at the expense of the host. *Nat Rev Cancer*. 2013;13(7):497-510. doi: https://doi.org/10.1038/nrc3486
3. Мустафин Р.Н., Хуснутдинова Э.К. Эпигенетика канцерогенеза. // Креативная хирургия и онкология. – 2017. – Т. 7. – №3. – С. 60-67. [Mustafin RN, Khusnutdinova EK. Epigenetics of carcinogenesis. *Kreativnaya khirurgiya i onkologiya*. 2017;7(3):60-67. (In Russ.)]
4. Key T, Appleby P, Barnes I, et al. Endogenous sex hormones and breast cancer in postmenopausal women: reanalysis of nine prospective studies. *J Natl Cancer Inst*. 2002;94(8):606-616. doi: https://doi.org/10.1093/jnci/94.8.606
5. Waks AG, Winer EP. Breast Cancer Treatment: A Review. *JAMA*. 2019;321(3):288-300. doi: https://doi.org/10.1001/jama.2018.19323
6. medbiol.ru [интернет]. Эстрадиол: метаболизм [доступ от 09.03.2018]. Доступ по ссылке http://medbiol.ru/medbiol/femrep/00009890.htm. [medbiol.ru [Internet]. Estradiol: metabolism [cited 2018 Mar 9]. Available from: http://medbiol.ru/medbiol/femrep/00009890.htm. (In Russ.)]
7. Берштейн Л.М. *Гормональный канцерогенез*. – СПб.: Наука; 2000. [Berstein LM. *Gormonal'nyy kantserogenez*. Saint Petersburg: Nauka; 2000. (In Russ.)]
8. Li F, Zhu W, Gonzalez FJ. Potential role of CYP1B1 in the development and treatment of metabolic diseases. *Pharmacol Ther*. 2017;178:18-30. doi: https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.03.007
9. Cavalieri EL, Rogan EG. Unbalanced metabolism of endogenous estrogens in the etiology and prevention of human cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2011;125(3-5):169-180. doi: https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2011.03.008
10. Cavalieri E, Rogan E. The molecular etiology and prevention of estrogen-initiated cancers: Ockham's Razor: Pluralitas non est ponenda sine necessitate. Plurality should not be posited without necessity. *Mol Aspects Med*. 2014;36:1-55. doi: https://doi.org/10.1016/j.mam.2013.08.002
11. Dawling S, Roodi N, Parl FF. Methoxyestrogens exert feedback inhibition on cytochrome P450 1A1 and 1B1. *Cancer Res*. 2003;63(12):3127-3132.
12. Stack DE, Li G, Hill A, Hoffman N. Mechanistic insights into the Michael addition of deoxyguanosine to catechol estrogen-3,4-quinones. *Chem Res Toxicol*. 2008;21(7):1415-1425. doi: https://doi.org/10.1021/tx800071u
13. Monteiro JP, Wise C, Morine MJ, et al. Methylation potential associated with diet, genotype, protein, and metabolite levels in the Delta Obesity Vitamin Study. *Genes Nutr*. 2014;9(3):403. doi: https://doi.org/10.1007/s12263-014-0403-9
14. Шахматова О.О., Комаров А.Л., Панченко Е.П. Нарушение обмена гомоцистеина как фактор риска развития сердечно-сосудистых заболеваний: влияние на прогноз и возможности медикаментозной коррекции. // *Кардиология*. – 2010. – Т. 50. – №1. – С. 42-50. [Shakhmatova OO, Komarov AL, Panchenko EP. Disturbances of Homocysteine Metabolism as a Risk Factor of Development of Cardiovascular Diseases: Effect on Prognosis and Possibilities of Correction With Drugs. *Cardiology*. 2010;50(1):42-50. (In Russ.)]
15. Medici V, Schroeder DI, Woods R, et al. Methylation and gene expression responses to ethanol feeding and betaine supplementation in the cystathionine beta synthase-deficient mouse. *Alcohol Clin Exp Res*. 2014;38(6):1540-1549. doi: https://doi.org/10.1111/acer.12405
16. Чагай Н.Б., Мкртумян А.М. Метилирование эстрогенов, ожирение и рак молочной железы. // *Проблемы эндокринологии*. – 2018. – Т. 64. – № 4. – С. 244-251. [Chagay NB, Mkrtumyan AM.

Estrogen methylation, obesity and breast cancer. *Problems of endocrinology*. 2018;64(4):244-251. (In Russ.)]
doi: https://doi.org/10.14341/probl9550

17. Смирнов В.В., Леонов Г.Е. Эпигенетика: теоретические аспекты и практическое значение. // *Лечащий врач*. – 2016. – № 12. – С. 26. [Smirnov VV, Leonov GE. Epigenetics: theoretical aspects and practical value. *Practitioner*. 2016;(12):26. (In Russ.)]
18. Козлов В.А. Метилирование ДНК клетки и патология организма. // *Медицинская иммунология*. – 2008. – Т. 10. – № 4-5. – С. 307-318. [Kozlov VA. Methylation of cellular DNA and pathology of the organism. *Medical Immunology* (*Russia*). 2008;10(4-5):307-318. (In Russ.)]
doi: https://doi.org/10.15789/1563-0625-2008-4-5-307-318
19. medbiol.ru [интернет]. Рак в эпигенетических исследованиях [доступ от 11.06.2019]. Доступ по ссылке: http://medbiol.ru/medbiol/epigenetica/001f4c86.htm [Medbiol.ru [Internet]. Cancer in epigenetic studies [cited 11 Jun 2019]. Available from: http://medbiol.ru/medbiol/epigenetica/001f4c86.htm. (In Russ.)]
20. rusbiotech.ru [интернет]. Петраш Н. Роль метилирования ДНК в канцерогенезе [доступ от 11.06.2019].
Доступ по ссылке: http://rusbiotech.ru/article/rol-metilirovaniya-dnk-v-kancerogeneze/ [Rusbiotech.ru [Internet].
The role of DNA methylation in carcinogenesis [cited 2019 Jun 11.] Available from: http://rusbiotech.ru/article/rol-metilirovaniya-dnk-v-kancerogeneze/. (In Russ.)]
21. Sproul D, Kitchen RR, Nestor CE, et al. Tissue of origin determines cancer-associated CpG island promoter hypermethylation patterns. *Genome Biol*. 2012;13(10):R84.
doi: https://doi.org/10.1186/gb-2012-13-10-r84
22. Ivorra C, Fraga MF, Bayon GF, et al. DNA methylation patterns in newborns exposed to tobacco in utero. *J Transl Med*. 2015;13:25.
doi: https://doi.org/10.1186/s12967-015-0384-5
23. Vucetic Z, Kimmel J, Totoki K, et al. Maternal high-fat diet alters methylation and gene expression of dopamine and opioid-related genes. *Endocrinology*. 2010;151(10):4756-4764.
doi: https://doi.org/10.1210/en.2010-0505
24. Bloushtain-Qimron N, Yao J, Snyder EL, et al. Cell type-specific DNA methylation patterns in the human breast. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008;105(37):14076-14081.
doi: https://doi.org/10.1073/pnas.0805206105
25. Liu Y, Colditz GA, Rosner B, et al. Alcohol intake between menarche and first pregnancy: a prospective study of breast cancer risk. *J Natl Cancer Inst*. 2013;105(20):1571-1578.
doi: https://doi.org/10.1093/jnci/djt213
26. Swift-Scanlan T, Smith CT, Bardowell SA, Boettiger CA. Comprehensive interrogation of CpG island methylation in the gene encoding COMT, a key estrogen and catecholamine regulator. *BMC Med Genomics*. 2014;7:5.
doi: https://doi.org/10.1186/1755-8794-7-5
27. Cano A, Buque X, Martinez-Una M, et al. Methionine adenosyltransferase 1A gene deletion disrupts hepatic very low-density lipoprotein assembly in mice. *Hepatology*. 2011;54(6):1975-1986.
doi: https://doi.org/10.1002/hep.24607
28. Elshorbagy AK, Nijpels G, Valdivia-Garcia M, et al. S-adenosylmethionine is associated with fat mass and truncal adiposity in older adults. *J Nutr*. 2013;143(12):1982-1988.
doi: https://doi.org/10.3945/jn.113.179192
29. Amaral CL, Bueno Rde B, Burim RV, et al. The effects of dietary supplementation of methionine on genomic stability and p53 gene promoter methylation in rats. *Mutat Res*. 2011;722(1):78-83.
doi: https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2011.03.006
30. IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Alcohol consumption and ethyl carbamate. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum*. 2010;96:3-1383.
31. Hamajima N, Hirose K, Tajima K, et al. Alcohol, tobacco and breast cancer--collaborative reanalysis of individual data from 53 epidemiological studies, including 58,515 women with breast cancer and 95,067 women without the disease. *Br J Cancer*. 2002;87(11):1234-1245.
doi: https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6600596
32. Varela-Rey M, Woodhoo A, Martinez-Chantar ML, et al. Alcohol, DNA methylation, and cancer. *Alcohol Res*. 2013;35(1):25-35.
33. Allen NE, Beral V, Casabonne D, et al. Moderate alcohol intake and cancer incidence in women. *J Natl Cancer Inst*. 2009;101(5):296-305. doi: https://doi.org/10.1093/jnci/djn514
34. Dartois L, Fagherazzi G, Baglietto L, et al. Proportion of premenopausal and postmenopausal breast cancers attributable to known risk factors: Estimates from the E3N-EPIC cohort. *Int J Cancer*. 2016;138(10):2415-2427.
doi: https://doi.org/10.1002/ijc.29987
35. Masso-Welch PA, Tobias ME, Vasantha Kumar SC, et al. Folate exacerbates the effects of ethanol on peripubertal mouse mammary gland development. *Alcohol*. 2012;46(3):285-292.
doi: https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2011.12.003
36. Liu Y, Nguyen N, Colditz GA. Links between alcohol consumption and breast cancer: a look at the evidence. *Womens Health* (*Lond*). 2015;11(1):65-77. doi: https://doi.org/10.2217/whe.14.62
37. Castro GD, Delgado de Layño AMA, Costantini MH, Castro JA. Cytosolic xanthine oxidoreductase mediated bioactivation of ethanol to acetaldehyde and free radicals in rat breast tissue. Its potential role in alcohol-promoted mammary cancer. *Toxicology*. 2001;160(1-3):11-18.
doi: https://doi.org/10.1016/s0300-483x(00)00433-9
38. Yu HS, Oyama T, Isse T, et al. Formation of acetaldehyde-derived DNA adducts due to alcohol exposure. *Chem Biol Interact*. 2010;188(3):367-375.
doi: https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.08.005
39. Purohit V, Abdelmalek MF, Barve S, et al. Role of S-adenosylmethionine, folate, and betaine in the treatment of alcoholic liver disease: summary of a symposium. *Am J Clin Nutr*. 2007;86(1):14-24.
doi: https://doi.org/10.1093/ajcn/86.1.14
40. Cheng G, Li Y, Omoto Y, et al. Differential Regulation of Estrogen Receptor (ER)α and ERβ in Primate Mammary Gland. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(1):435-444.
doi: https://doi.org/10.1210/jc.2004-0861
41. Zhang Q, Jin J, Zhong Q, et al. ERalpha mediates alcohol-induced deregulation of Pol III genes in breast cancer cells. *Carcinogenesis*. 2013;34(1):28-37. doi: https://doi.org/10.1093/carcin/bgs316
42. Rai V. The methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and breast cancer risk in Asian populations. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(14):5853-5860.
doi: https://doi.org/10.7314/apjcp.2014.15.14.5853
43. Zhong S, Chen Z, Yu X, et al. A meta-analysis of genotypes and haplotypes of methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms in breast cancer. *Mol Biol Rep*. 2014;41(9):5775-5785.
doi: https://doi.org/10.1007/s11033-014-3450-9
44. Liu W, Li Y, Li R, et al. Association of Mthfr A1298c Polymorphism with Breast Cancer and/or Ovarian Cancer Risk: An Updated Meta-Analysis. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 2016;13(5):72-86.
doi: https://doi.org/10.21010/ajtcam.v13i5.11
45. Hu J, Zhou GW, Wang N, Wang YJ. MTRR A66G polymorphism and breast cancer risk: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat*. 2010;124(3):779-784.
doi: https://doi.org/10.1007/s10549-010-0892-1
46. Lu M, Wang F, Qiu J. Methionine synthase A2756G polymorphism and breast cancer risk: a meta-analysis involving 18,953 subjects. *Breast Cancer Res Treat*. 2010;123(1):213-217.
doi: https://doi.org/10.1007/s10549-010-0755-9
47. Liu M, Cui LH, Ma AG, et al. Lack of effects of dietary folate intake on risk of breast cancer: an updated meta-analysis of prospective studies. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(5):2323-2328.
doi: https://doi.org/10.7314/apjcp.2014.15.5.2323

48. Chen P, Li C, Li X, et al. Higher dietary folate intake reduces the breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Br J Cancer*. 2014;110(9):2327-2338. doi: https://doi.org/10.1038/bjc.2014.155
49. Macacu A, Autier P, Boniol M, Boyle P. Active and passive smoking and risk of breast cancer: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat*. 2015;154(2):213-224. doi: https://doi.org/10.1007/s10549-015-3628-4
50. Gu F, Caporaso NE, Schairer C, et al. Urinary concentrations of estrogens and estrogen metabolites and smoking in caucasian women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2013;22(1):58-68. doi: https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-12-0909
51. Peng J, Xu X, Mace BE, et al. Estrogen metabolism within the lung and its modulation by tobacco smoke. *Carcinogenesis*. 2013;34(4):909-915. doi: https://doi.org/10.1093/carcin/bgs402
52. O'Neill B, Lauterstein D, Patel JC, et al. Striatal dopamine release regulation by the cholinergic properties of the smokeless tobacco, gutkha. *ACS Chem Neurosci*. 2015;6(6):832-837. doi: https://doi.org/10.1021/cn500283b
53. Wolk R, Shamsuzzaman AS, Svatikova A, et al. Hemodynamic and autonomic effects of smokeless tobacco in healthy young men. *J Am Coll Cardiol*. 2005;45(6):910-914. doi: https://doi.org/10.1016/j.jacc.2004.11.056
54. Eshleman AJ, Stewart E, Evenson AK, et al. Metabolism of Catecholamines by Catechol-O-Methyltransferase in Cells Expressing Recombinant Catecholamine Transporters. *J Neurochem*. 1997;69(4):1459-1466. doi: https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1997.69041459.x
55. Smith ML, King J, Dent L, et al. Effects of acute and sub-chronic L-dopa therapy on striatal L-dopa methylation and dopamine oxidation in an MPTP mouse model of Parkinsons disease. *Life Sci*. 2014;110(1):1-7. doi: https://doi.org/10.1016/j.lfs.2014.05.014
56. Xu Q, Ma JZ, Payne TJ, Li MD. Determination of Methylated CpG Sites in the Promoter Region of Catechol-O-Methyltransferase (COMT) and their Involvement in the Etiology of Tobacco Smoking. *Front Psychiatry*. 2010;1:16. doi: https://doi.org/10.3389/fpsyt.2010.00016
57. Breton CV, Byun HM, Wenten M, et al. Prenatal tobacco smoke exposure affects global and gene-specific DNA methylation. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009;180(5):462-467. doi: https://doi.org/10.1164/rccm.200901-0135OC
58. White AJ, Chen J, McCullough LE, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)-DNA adducts and breast cancer: modification by gene promoter methylation in a population-based study. *Cancer Causes Control*. 2015;26(12):1791-1802. doi: https://doi.org/10.1007/s10552-015-0672-7
59. Tehranifar P, Wu HC, McDonald JA, et al. Maternal cigarette smoking during pregnancy and offspring DNA methylation in midlife. *Epigenetics*. 2018;13(2):129-134. doi: https://doi.org/10.1080/15592294.2017.1325065
60. Besingi W, Johansson A. Smoke-related DNA methylation changes in the etiology of human disease. *Hum Mol Genet*. 2014;23(9): 2290-2297. doi: https://doi.org/10.1093/hmg/ddt621

Рукопись получена: 22.01.2019
Одобрена к публикации: 28.05.2019
Опубликована online: 18.06.2019

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ
***Чагай Наталья Борисовна**, д.м.н. [Natalia B. Chagay, MD, PhD]; адрес: Россия, 355000 Ставрополь, улица Ленина, д. 304, [address: 304 Lenina Street, Stavropol, 355000, Russia]; ORCID: http://orcid.org/0000-0001-8022-9291; eLibrary SPIN: 2323-7791; e-mail: chagaynb@gmail.com
Мкртумян Ашот Мусаелович, д.м.н., профессор [Ashot M. Mkrtumyan, MD, PhD, Professor]; ORCID: http://orcid.org/0000-0003-1316-5245; eLibrary SPIN: 1980-8700; e-mail: vagrashot@mail.ru

КАК ЦИТИРОВАТЬ:
Чагай Н.Б., Мкртумян А.М. Метаболизм эстрогенов, прижизненные нарушения процессов метилирования и рак молочной железы // *Проблемы эндокринологии*. – 2019. – Т. 65. – №3. – С. 161-173. doi: https://doi.org/10.14341/probl10070

TO CITE THIS ARTICLE:
Chagay NB, Mkrtumyan AM. Estrogen metabolism, lifetime methylation disorders, and breast cancer. *Problems of Endocrinology*. 2019;65(3): 161-173. doi: https://doi.org/10.14341/probl10070