**МЕТАБОЛИЗМ ЭСТРОГЕНОВ, ПРИЖИЗНЕННЫЕ НАРУШЕНИЯ ПРОЦЕССОВ МЕТИЛИРОВАНИЯ И РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

### Авторы

Н.Б.Чагай1,2, А.М. Мкртумян3

### Организации

1 Автономная некоммерческая медицинская организация «Ставропольский краевой клинический консультативно-диагностический центр», Ставрополь, Россия

2Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ставрополь, Россия

3Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Россия

### Резюме

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 РМЖ у женщин как в пре-, так и в постменопаузе.

Важнейшим шагом в понимании патогенеза РМЖ стало развитие теории о «переключении» эстрогенного эффекта с гормонального на генотоксический, согласно которой главными виновниками канцерогенеза признаны не собственно метаболиты эстрогенов, а их химические производные. Происхождение упомянутых химических метаболитов и формирование генотоксичности эстрогенов кроется в нарушении процесса инактивации именно 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. Интерес представляют исследования в области влияния факторов окружающей среды на процессы тотального прижизненного ДНК-гипометилирования и возникающего на его фоне дифференцированного аберрантного гиперметилирования. Феномен гипометилирования-гиперметилирования лежит в основе долговременного сайленсинга различных генов, в том числе генов-супрессоров опухолевого роста.

Питание, образ жизни, сопряженный с употреблением 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 *СОМТ*, ответственного за метаболизм эстрогенов.

### Ключевые слова

эстрогены, рак молочной железы, метилирование, ДНК-метилирование, *СОМТ*, алкоголь, курение

### Title

##### **ESTROGEN METABOLISM, LIFE DISORDERS OF METHYLATION PROCESSES AND BREAST CANCER**

### Authors

NB Chagay1, 2, AM Mkrtumyan3

### Affiliation

1Stavropol Regional Clinical Consultative and Diagnostic Center, Stavropol, Russia

2Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia

3 Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimov, *Moscow, Russia*

### Abstract

Oncogenesis is due to increased activity of the genes responsible for initiating tumor growth in stem or progenitor cells. The most common cause of tumor development is the suppression of the action of suppressor genes. The effects of endogenous estrogen are associated with an increased risk of developing breast cancer in women, both in premenopausal and postmenopausal women.

The most important step in understanding the pathogenesis of breast cancer was the development of the theory of the switching of the estrogenic effect from hormonal to genotoxic, according to which the main culprits of carcinogenesis are not chemical metabolites of estrogens, but their chemical derivatives. The origin of these chemical metabolites and the formation of estrogen genotoxicity is a violation of the process of inactivation of catechol estrogen in methylation reactions.

The main epigenetic modification of the human genome is the methylation of cellular DNA. DNA methylation does not alter the primary nucleotide sequence, but inhibits gene activity. Studies of the influence of environmental factors on the processes of life-long total DNA hypomethylation and differentiated aberrant hypermethylation are relevant. The phenomenon of hypomethylation-hypermethylation underlies the long-term silencing of various genes, including tumor suppressor genes.

Nutrition and alcohol and tobacco smoking, determine the availability of methyl groups and estrogen metabolism, as well as epigenetic changes in the DNA of the genome. The assessment of the individual risk of breast cancer based on the study of the expression and methylation of the COMT gene responsible for estrogen metabolism is relevant.

### Keywords

### estrogen, breast cancer, methylation, DNA Methylation, *COMT*, alcohol, tobacco smoke

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], в то время 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 инициацию 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 [3].

Воздействие эндогенных эстрогенов ассоциируется с частотой РМЖ у женщин в пре- и постменопаузе [4]. Но заболевание имеет значимое повышение риска 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 невероятной остается мысль о том, что главный атрибут женственности призван активировать карциноидную программу.

**МЕТАБОЛИЗМ ЭСТРОГЕНОВ**

Главным органом биотрансформации эстрогенов является печень, но также этот процесс осуществляется в периферических тканях, в частности, в МЖ. Известно, что 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-эстрадиол, 4-ОН-эстрадиол, 2-ОН-эстрон, 4-ОН-эстрон), 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 [5, 6].

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. Последовательное превращение исходных гормонов до 2- и 4-ОН-эстрогенов определяют гены *CYP1A1* и *CYP1B1*, соответственно. Образование 16α-ОН-эстрогенов контролируется геном *CYP3A4*.

Количественно 2-гидроксилирование является основным метаболическим путем по сравнению с реакциями 4- и 16-гидроксилирования. 2-гидроксиэстрогены обладают низкой аффинностью к рецепторам эстрогенов (ER) и демонстрируют пониженную гормональную активность, по сравнению с эстрадиолом. Это позволяет исследователям относить их к «антиэстрогенам», поскольку препятствуют избыточной пролиферации, 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 усилению активации ER.

16α-ОН-эстрон, несмотря на мощный агонизм к ER, высокую митогенность, относится к слабым канцерогенам за счет превращения в эстриол [7].

Важнейшим шагом в понимании патогенеза РМЖ стало развитие теории о «переключении» эстрогенного эффекта с гормонального на генотоксический, согласно которой главными виновниками канцерогенеза признаны не собственно метаболиты эстрогенов, какими бы активными они ни были, а их химические производные [8].

Особенность эстрогенов превращаться в химические агенты генотоксичности подразумевает способность их особых, специфических окислительных метаболитов вступать в реакцию с ДНК клетки, повреждать ее структуру, генерируя критическую мутацию, закрепляющуюся в поколениях клеток [8]. Исследование канцерогенности производных эндогенных эстрогенов показывает, что они вызывают рак не только в органах-мишенях, но и независимых от эстрогенов тканях [9]. Это позволяет предполагать, что специфические мутации, сгенерированные химическими производными неметаболизированных эстрогенов, провоцируют аномальную клеточную пролиферацию [8]. Опосредованная эстрогенами пролиферация эстроген-зависимых клеток – процесс естественный, но после запуска канцерогенеза представляется средством поддержания патологических митозов.

Происхождение упомянутых химических метаболитов и формирование генотоксичности эстрогенов кроется в нарушении процесса инактивации именно катехолэстрогенов в реакциях метилирования.

Метилирование веществ до их метоксипроизводных (перенос метильных групп -СН3) – относится не только к белкам, полисахаридам, фосфолипидам, но и к ДНК и РНК, 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 кодируется геном *COMT,* расположенным на хромосоме 22q11. Dawling S. и соавт. [10] изучали возможности генов *CYP1A1* и *CYP1B1,* контролирующих синтез 2-ОН-, 4-ОН-эстрогенов, вызывать O-*де*метилирование метоксиэстрогенов, то есть повторный синтез гидроксиэстрогенов. Оказалось, что метоксиметаболиты оказывают ингибирование *CYP1A1*- и *CYP1B1*- окисления, не позволяя реактивировать гидроксиметаболиты. Более того, сами метоксиметаболиты оказывают антипролиферативный эффект в дозо-зависимой манере.

Обязательным условием полноценного метилирования катехолэстрогенов является не только доступность метильных групп, состоятельность гена *СОМТ*, но и участие антиоксидантов. При недостаточной концентрации последних [11], в присутствии липидных перекисей, катехолэстрогены вовлекаются в образование семихинонов и хинонов. Хиноны способны изменять структуру ДНК, образуя так называемые ДНК-аддукты, что влечет за собой невозможность процесса транскрипции или мутациям.

В своей ранней работе мы обсуждали [11], что 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) высвобождаются от связи с ДНК, оставляя после себя нерепарируемые участки, закрепляя повреждение ДНК в последующих поколениях клеток. Известные антиоксиданты, такие как глутатион, N-ацетилцистеин, а также ресвератрол (присутствует в винограде), эффективны не только в ингибировании образования эстроген-ДНК-аддуктов, но и восстановлении хинонов и семихинонов до 4-OHэстрадиола и даже модулируют экспрессию *CYP1B1*, если он сверхактивен [8].

*Пути метилирования*

При участии фермента метионин-аденозилтрансферазы (МАТ) из метионина и аденозинтрифосфата (АТР) образуется макроэргическое коферментное производное S-аденозилметионин (SAM) [12]. SAM является донатором метила для 200 метилтрансферазных преобразований ДНК, РНК, белков и метаболитов, вовлечен в широкий диапазон метаболических и сигнальных путей. Метилтрансферазы (МТ) катализируют процессы переноса метила к различным из перечисленных акцепторным молекулам (X). После отдачи метильной группы, SAM превращается в S-аденозилгомоцистеин (SAH). Далее SAH подвергается гидролизу посредством 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 является токсичным веществом, 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 В6 в качестве кофактора, что обеспечивает элиминацию до 70% гомоцистеина [14].

Процесс реметилирования означает возвращение продукта в реакции метилирования и, 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 В12 – метилкобаламин; 2) заимствование метильной группы от молекулы бетаина (активный метаболит поступающего с пищей витамина В4 – холина) при участии фермента бетаин-гомоцистеин-метилтрансферазы (BHMT). При отклонениях в системе фолатного цикла и недостатке витамина В12, восстановление метионина за счет бетаина становится основным [15] (рис. 1).

Итак, метилирование – ведущий процесс метаболизма – представляет собой контролируемый перенос метильной группы к различным молекулам с целью их биотрансформации, выведения.

Для процессов метилирования совершенно необходимо присутствие в тканях организма переносчиков -СН3 групп. Таковыми являются витамины группы В, в том числе фолиевая кислота (витамин В9). 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.

Факторами, 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 *СОМТ* [11]. 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 [16].

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 (silencing – сайленсинг) определенных генов. Реакции метилирования ДНК катализируются группой ферментов ДНК-метилтрансфераз (DNMT).

Энзиматическое по пятому положению метилирование остатков цитозина осуществляется в составе 5/-CpG динуклеотидов (CpG-сайтов). CpG – это общепринятое сокращенное название для цитозина (С) и гуанина (G), разделенных фосфатом (p), связывающим эти два нуклеотида вместе в ДНК. Около 60-70 % всех CpG-динуклеотидов у млекопитающих метилированы. Неметилированные CpG-динуклеотиды сгруппированы в так называемые «CpG-островки» – участки высокой плотности CpG, лишенные метилирования и обнаруживаемые на промоторах большинства генов человека.

Долговременный сайленсинг гена может быть обеспечен метилированием района островков CpG. Цитозины CpG островков постоянно экспрессируемых генов не метилированы, тогда как CpG в регулируемых генах в зависимости от типа ткани могут быть метилированными или неметилированными, что коррелирует с уровнем транскрипции гена [17]. Таким образом, метилирование ДНК является динамичным процессом, изменяющимся под влиянием факторов внутренней и внешней среды.

Глобальное гипометилирование ДНК, сопровождаемое повышением экспрессии ряда генов, является характерным признаком процессов старения организма. Его задачей является индукция клеточной трансформации, активация регенераторных процессов после воздействия каких-либо повреждающих факторов [18]. Но, помимо изменений вследствие старения, гипометилирование ДНК вследствие дефицита СН3-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, *де*репрессии 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 гиперметилированые CpG-островки в промоторных участках отдельных генов [18]. Если гиперметиляции подвергаются гены-супрессоры опухолей, снижается их экспрессия, а значит, риск канцерогенеза становится очевидным.

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 стабильной инактивации гена, также не ясны. Возможно, повышение метилтрансферазной активности [20] является адаптационной мерой, формирующейся в условиях аномального (возможно, продолжительного) гипометилирования. Исходя из этой гипотезы возникает предположение, 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. Sproul et al. [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], высокожирного питания матери [23] и др.

Bloushtain-Qimron et al. в исследовании in vitro показано [24], 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 клеткой. То есть, еще на уровне стволовой клетки, обладающей способностью к самовоспроизводству, закладывается более ощутимая реакция на эстрогеновый стимул. Запечатление (импритинг) эффектов эстрогенов объясняет вовлеченность таких внешних факторов на карциногенез, как срок менархе, завершенные беременности, время наступления постменопаузы. Обобщенное мнение исследователей таково, что риск РМЖ накапливается на протяжении всей жизни женщины, однако быстрое усиление такового происходит от начала эстрогенизации [25].

В связи с тем, что ген *СОМТ* контролирует не только метаболизм катехоламинов и эстрогенов, но и общий статус метилирования организма, а также сам ген не является исключением и его экспрессия определяется степенью связывания ДНК с метильными группами, интерес к данному объекту очень высок. Известно, что уровень активности фермента КОМТ в тканях человека неодинаков, варьирует от низких до средних и высоких значений, изменяется с возрастом [26].Безусловно, 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 [11]. Замещение метионина (Met) на валина (Val) в положении 158 приводит к трех-, четырехкратному подавлению активности фермента КОМТ из-за снижения стабильности белка. В то же время, эпигенетическая вариация, неодинаковое (дифференцированное) метилирование множественных локусов гена *СОМТ* ассоциируется с социально-экономическим статусом, стрессом, этнической принадлежностью, употреблением 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 *СОМТ* 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, образ жизни, сопряженный с употреблением сверхдопустимых количеств алкоголя, курением, наличие ожирения [11] определяют доступность метильных групп в организме и эпигенетические изменения ДНК генома. Абсолютный дефицит донаторов и переносчиков метила (метионина, холина, витамина В12 и фолиевой кислоты), а также возраст, и др. факторы онтогенеза ассоциированы с фенотипическими геномными различиями [12].

Развивающаяся область исследований, называемая нутригеномикой, изучает влияние пищи на геном человека с целью профилактики ряда заболеваний. Недостаток или избыток источников -CН3 отражается на поступлении SAM в цикл метионина. Гипометиониновая (гипохолиновая) диета сопровождается снижением печеночного запаса SAM, а колебания уровней SAM, SAH и гомоцистеина, впоследствии, определяют потенциал метилирования всех SAM-зависимых молекул [12]. Метильные группы необходимы для образования фосфатидилхолина в печени, обеспечивающего «сборку» ЛПОНП и в их составе экскреции триглицеридов в кровоток [33]. То есть, дефицит SAM ответственнен за нарушение синтеза ЛПОНП, сопровождается инфильтрацией печени триглицеридами и, в конечном итоге, ассоциируется с манифестацией или прогрессированием неалкогольной жировой болезни печени [11].

При развитии стеатоза печени ожидается подавление продукции SAM. Но Elshorbagy AK et al. [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 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 показателями SAM, SAH [28], с риском проявления генотоксичности последнего. Но похожее исследование по применению метионина в супрафизиологических концентрациях 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 году 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 дринк/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 ежедневных количеств алкоголя еще на 1 дринк/сутки повышает риск до 12% [33]. Данные проспективного когортного исследования 2016 года 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 увеличен на 26% при ежедневном потреблении 5,0-14,9 г (~ 0,5-1,5 дринк) и на 39% при дозе ≥ 15 г до первой беременности.

Частота РМЖ за 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 (то есть 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, происходит 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 часов – средней и 2 часа – низкой дозы алкоголя. И, что наиболее важно, уровень продукта деградации спирта в плазме одинаков для всех трех доз этанола, то есть печень имеет способность 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], то есть 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 вступления в метаболизм 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 незавершением реакций их метилирования. То есть, замыкается порочный круг алкоголь-опосредованной гиперэстрогенизации повышением 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]. В данном контексте хотелось бы заметить, что применение с лечебно-профилактической целью препаратов на основе фолиевой кислоты или SAM кажется вполне логичным. Обсуждение данного вопроса приводится ниже.

В норме экспрессия стероидных рецепторов и пролиферативный рост эпителиальных клеток МЖ наблюдаются в раздельных клеточных популяциях. Клетки, содержащие ERα, неизменно снабжены прогестероновыми рецепторами (PR). Эстрогены стимулируют биосинтез PR. ERα является ответственным за эстрадиол-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 обеспечить пролиферацию в эпителии МЖ. ERα после воздействия эстрогена передают сигнал о запуске клеточной пролиферации, после чего биосинтез ER на время прекращается. После свершившегося запуска пролиферация находится под контролем ERβ. Функция ERβ, постоянно находящихся в ядре клетки, заключается также в обеспечении синтез ERα повторно, то есть восстанавливается чувствительность эпителиоцита к эстрадиолу [40].

Процессы пролиферации протокового и альвеолярного эпителия связаны с прогестерон-зависимыми факторами роста (в манере паракринной регуляции PR-негативные клетки контролируют пролиферацию) [40].

Zhang Q. et al. [41] показали, что этанол вызывает 10-15-кратное увеличение экспрессии генов ERα, с последующим усилением факторов транскрипции, ответственных за фенотипическую реализация эффектов гормона.

Алкоголь ассоциируется с повышением риска как ER+/PR- , так и ER+/PR+ форм заболевания, но не имеет четкой связи 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 употреблением этанола объясняется усилением естественных процессов митотического деления на фоне гиперэстрогении, 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) (рис. 1).

Большинство повреждений ДНК может быть исправлено в ходе репарации. Однако некоторые повреждения ДНК, а именно двунитевые разрывы, могут привести к эпигенетическим изменениям в виде метилирования окружающей ДНК и, как следствие, «замолканию» гена. Также доказано, что эффекты алкоголя распространяются на ингибирование активности и экспрессии ферментов, участвующих в ДНК-метилировании [32].

*Фолат и канцеропротекция*

Известно, что патология в системе фолатного цикла имеет место у больных с мутациями генов *MTHFR, MTR, MTRR* (рис. 1)*,* сопровождается гипергомоцистеинемией и дефицитом метильных групп и, несомненно, сопряжена с определенными изменениями эстрогенового метаболизма. Исследования, посвященные поиску зависимости распространенной гомозиготной мутации С677Т гена *MTHFR* [41] и риска РМЖ трактуются не однозначно. В частности, Zhong. et al. [42] не было получено значимых ассоциаций РМЖ и наиболее распространенным вариантом полиморфизма гена *MTHFR* A1298C. Однако мета-анализ 35 исследований (19,527 случаев) отметили четкую корреляцию данного варианта полиморфизма гена *MTHFR* A1298C с риском развития РМЖ и/или яичников (для гомозиготной модели AA vs CC OR = 1.11, CI: 1,03-1,19, P = 0.005) [43].

По данным мета-анализов в азиатской популяции, известные мутации A2756G гена *MTR* [42], A66G гена *MTRR* [44], вероятно, не коррелируют с частотой РМЖ. В то время как данные мета-анализа 11 опубликованных исследований (8 438 наблюдений) Lu M et al. [45] обнаруживают повышение восприимчивости к раку МЖ среди европейцев, имеющих распространенный вариант полиморфизма гена *MTR*.

Различные популяции мира имеют выраженную генетическую гетерогенность по частоте генотипов и аллелей С677Т и А1298С полиморфизмов гена *MTHFR*, генов *MTR, MTRR*. Особого внимания заслуживает персонифицированная оценка риска РМЖ у больных с полиморфизмом генов фолатного цикла, с поправкой на наличие модифицируемых факторов эпигенетической силы воздействия.

Связь метаболизма фолата с процессом реметилирования обязательно должна учитываться в программе реабилитации печеночного метаболизма после воздействия этанола. У отдельных лиц имеется вариабельность депрессии печеночного метаболизма под влиянием «допустимых» и «токсических» доз алкоголя. Эпидемиологические данные в отношении взаимосвязи между применением фолатов с протективной целью и риском развития РМЖ у лиц, потребляющих алкоголь, широко обсуждаются, но весьма противоречивы. В частности, мета-анализ перспективных когортных исследований, (24083 пациенток с РМЖ), показал, что употребление фолата в дозе 220 мкг в день не оказывает существенного влияния на риск заболевания [RR 0,98 (0,90-1,05)] [46]. Подобный же мета-анализ Chen P. et al [47] 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 оказывается прямым токсином, нарушающим нормальные 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 повреждения ДНК (мутации) в следующих поколениях клеток. Эстрогены, как естественные регуляторы процессов пролиферации поддерживают митозы в клетках с измененной ДНК.

Поддержание полноценного метаболизма эстрогенов является важным условием предупреждения генетической токсичности нежелательных метаболитов эстрогенов (трансформация их в хиноны). Нутритивная поддержка донаторами метильных групп и их переносчиков – фолиевой кислоты, витамина В12, бетаина, вероятно, важна с точки зрения протекции 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 В12, связь этих параметров с активностью фермента КОМТ заслуживает интереса в оценке индивидуального риска как изолированного нарушения метаболизма эстрогенов, так и канцерогенеза МЖ. Остается открытым вопрос относительно интрамаммарной вариабельности экспрессии гена *СОМТ,* как прогностического фактора, у пациенток репродуктивного возраста с пролиферативными формами доброкачественной дисплазии МЖ.

*Курение и метилирование*

В настоящее время результаты различных авторитетных исследований [48] свидетельствуют о том, что как активное, так и пассивное курение ассоциируются с увеличением риска развития 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 приводят к изменению метаболизма стероидов, причем интерпретация результатов исследований об этом влиянии некоторое время была неоднозначна. Так, 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 (1996-99 гг.) 603 женщин пременопаузального возраста подтвердило снижение продукции эндогенных эстрогенов, правда, только в лютеиновую (не затронув фолликулярную) фазу менструального цикла. Абсолютные значения неканцерогенных 2-ОН-метаболитов не были увеличены, концентрации 16-ОН-метаболитов у курильщиц были статистически значимо ниже, в сравнении с некурящими, что могло бы быть благоприятно интерпретировано в отношении прогноза РМЖ. Однако эти данные не позволили соотнести курение со снижением риска РМЖ, поскольку воздействие табачного дыма сопровождается изолированным и значительным повышением проонкогенных 4-ОН-метаболитов эстрогенов [49].

В эксперименте Peng J et. al. показано [50], что возрастание концентрации 4-ОН-эстрогенов происходит за счет 2,3-кратного увеличения экспрессии гена *CYP1B1* (P = 0,008). Также отмечается снижение уровня мРНК *СОМТ* в 3,1 раза (P = 0,095), то есть имеет место задержка трансформации 4-ОН-метаболита эстрогена в его метоксипроизводное. Никаких существенных изменений уровня мРНК *CYP1A1* после воздействия табачного дыма не наблюдается. Таким образом, потребность в активации гена *СОМТ* при курении резко возрастает, но экспрессия его не повышается, а подавляется.

Интересно, что тропность алкалоидов табака (в частности, никотина) к ацетилхолиновым рецепторам обеспечивает дополнительное абсолютное увеличение продукции катехоламинов (дофамина [51] и конечного продукта – адреналина [52]), конкурирующих с эстрогенами за метильные группы. Замечено, что КОМТ может инактивировать четырехкратные концентрации дофамина и катехоламинов в разнообразных клеточных культурах (нейроглии, фибробластах кожи) [53]. Подострое (повторяющееся) введение дофамина может сопровождаться быстрым метаболизмом этого нейромедиатора вследствие усиления экспрессии гена *СОМТ* и возрастания концентрации соответствующего фермента [54]. Это означает, что возможность компенсаторной реакции на гиперсекрецию катехоламинов и дофамина, сверхфизиологическую секрецию 4-гидроксиэстрогенов при длительном курении все же существует. Продолжительность такой адаптации в форме генного потенцирования изолированно в клеточных комплексах МЖ подлежит изучению.

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

Природа относительного подавления (вместо желаемой активации) гена *СОМТ* при курении вызывает значительный интерес. Предполагается, что «пассивность» *СОМТ* развивается по причине патологического гиперметилирования гена. Подтверждение этой гипотезы получено в исследовании Xu Q. et al. [55], обнаружившее усиление метилирования CpG динуклеотидов в промоторной области гена *СОМТ* (22,2% курильщики vs 18,3% некурящие, p<0,01). Авторы связали с ослабленностью экспрессии *СОМТ* развитие никотиновой зависимости.

Важно, что курение сопряжено с прямыми повреждающими эффектами в отношении ДНК. Существует мнение, что табачный дым вызывает окислительный стресс, что сопровождается широким спектром структурных повреждений ДНК. Такие нарушения приводят к дефекту связывания DNMT с собственно молекулой ДНК и, в итоге – к глобальному гипометилированию [56]. 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). Вызванное ПАУ образование ДНК-аддуктов сочетается с аберрантным ген-специфическим метилированием генов-супрессоров опухолей, в частности *RARβ* и *APC* и ассоциируется с заболеваемостью РМЖ [57].

Возможно, как и в случае с длительной интоксикацией алкоголем, продолжительное воздействие на организм табака приводит к изменению ДНК стволовой клетки. В доказательство данного предположения в работе Breton CV et al. [56] по изучению влияния табачного дыма на детей в период пренатального развития было показано, что воздействие его приводит к изменению метилирования ДНК различных генов. Так, 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. Эти изменения могут означать формирование защиты от агрессивной пролиферации. Однако, тотальное гиперметилирование сопряжено с сайленсингом не только генов-активаторов митозов, но и генов противоопухолевой защиты. Поэтому обнаруженные Besingi W. et al. [58] значимые ассоциации ДНК-гиперметилирования таких генов-супрессоров под влиянием компонентов табачного дыма у взрослых могут рассматриваться в качестве звеньев одной цепи гипометилирования-гиперметилирования.

Механизмы, лежащие в основе всех изменений метилома, не подлежат одновременному анализу, а прямая оценка измененного метилирования ДНК с последующими изменениями экспрессии генов практически невозможна. Однако очевидно, что воздействие на экспрессию генов ряда эпигенетических факторов можно предотвратить с раннего детства.

### Заключение

РМЖ является самым распространенным опухолевым заболеванием в женской популяции. Доказательства отрицательного влияния на геном и эпигеном образа жизни с чрезмерным употреблением алкоголя, курением весьма убедительны. Длительное воздействие токсинов любого происхождения может приводить к повреждению ДНК клетки и, при длительном воздействии, необратимости их вследствие несостоятельности репарации. Наличие промитогенных мутаций ДНК, при поддержке естественных регуляторов пролиферации – эстрогенов – создают 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 *СОМТ*, ответственного за полную инактивацию эстрогенов. Профилактика РМЖ предусматривает поиск 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 *СОМТ*.

### Дополнительная информация

**Источник финансирования.** Поисково-аналитическая работа проведена на личные средства авторского коллектива.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов в определении структуры исследования, при сборе, анализе и интерпретации данных.

**Участие авторов.**

Чагай Н.Б., Мкртумян А.М. Концепция и дизайн исследования, сбор и обработка полученных материалов, анализ полученных данных, написание текста.

### Список литературы

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. №2. [Sytenkova K.V., Pospekhova N.I., Poddubnaya I.V., Lyubchenko L.N. Clinical features of various genotypic variants in hereditary and sporadic breast cancer. Rossijskij bioterapevticheskij zhurnal. 2011(2). (in Russ.)]. Доступно по: <http://cyberleninka.ru/article/n/klinicheskie-osobennosti-razlichnyh-genotipicheskih-variantov-pri-nasledstvennom-i-sporadicheskom-rake-molochnoy-zhelezy>. Ссылка активна на 13.01.2019.
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: 10.1038/nrc3486.
3. Мустафин Р.Н., Хуснутдинова Э.К. Эпигенетика канцерогенеза // *Креативная хирургия и онкология.* 2017. №3. [Mustafin R.N., Khusnutdinova E.K. Epigenetic carcinogenesis. Kreativnaja hirurgija i onkologija. 2017(3) (in Russ.)]. Доступно по: https://cyberleninka.ru/article/n/epigenetika-kantserogeneza. Ссылка активна на 13.01.2019.
4. Key T, Appleby P, Barnes I, Reeves G. Endogenous Hormones and Breast Cancer Collaborative Group. Endogenous sex hormones and breast cancer in postmenopausal women: reanalysis of nine prospective studies. *J Natl Cancer Inst.* 2002;17;94(8):606-16.
5. Берштейн Л.М. *Онкоэндокринология. Традиции, современность, перспективы.* — СПб.: Наука; 2004. [Berstein LM. *Onkoendokrinologiya. Traditsii, sovremennost', perspektivy.* Saint-Petersburg: Nauka; 2004. (In Russ.)]
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.* – Санкт-Петербург.: Наука; 2000. [Berstein L.M. *Hormonal carcinogenesis.* St. Peterburg: Nauka; 2000 (in Russ.)]
8. 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):169-80. doi: 10.1016/j.jsbmb.2011.03.008.
9. Cavalieri E, Rogan E. The Molecular Etiology and Prevention of Estrogen-Initiated Cancers. *Molecular aspects of medicine.* 2014;0:1-55. doi:10.1016/j.mam.2013.08.002.
10. Dawling S, Roodi N, Parl FF. Methoxyestrogens exert feedback inhibition on cytochrome P450 1A1 and 1B1. *Cancer Res.* 2003;63(12):3127-32.
11. Чагай Н.Б., Мкртумян А.М. Метилирование эстрогенов, ожирение и рак молочной железы. *Проблемы эндокринологии*. 2018;64(4):244-251. [Chagay NB, Mkrtumyan A.M. Estrogen methylation, obesity and breast cancer. Problemy endocrinologii. 2018;64(4):244-251. (in Russ.)] doi: 10.14341/probl9550
12. 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: 10.1007/s12263-014-0403-9.
13. Lu SC, Mato JM. S-adenosylmethionine in liver health, injury, and cancer. *Physiol Rev.* 2012;92(4):1515-42. doi: 10.1152/physrev.00047.2011.
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. - №1. - С. 42-50. [Shakhmatova O.O., Komarov A.L., Panchenko E.P. Disruption of homocysteine metabolism as a risk factor for the development of cardiovascular diseases: the effect on the prognosis and the possibilities of medical correction. Kardiologiya. 2010(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):1540-9. doi: 10.1111/acer.12405.
16. Смирнов В.В., Леонов Г.Е. Эпигенетика: теоретические аспекты и практическое значение. Лечащий врач. 2016. № 12. – С. – 26.[Smirnov V.V., Leonov G.E. Epigenetics: theoretical aspects and practical significance. Lechashhiy vrach. 2016(12):26. (in Russ.)]
17. Марков А.В. Профиль метилирования ДНК при атеросклерозе. Диссертация…к.м.н. Томск – 2015 [Markov A. V. Profil' metilirovaniya DNK pri ateroskleroze. dissertation] Tomsk; 2015. (in Russ)] Доступно по: <https://docplayer.ru/40391715-Markov-anton-vladimirovich-profil-metilirovaniya-dnk-pri-ateroskleroze-genetika.html>. Ссылка активна на 20.01.2019
18. Козлов В.А. МЕТИЛИРОВАНИЕ ДНК КЛЕТКИ И ПАТОЛОГИЯ ОРГАНИЗМА. Медицинская иммунология. 2008;10(4-5):307-318. [Kozlov V.A. METHYLATION OF CELLULAR DNA AND PATHOLOGY OF THE ORGANISM. medicinskaya-immunologiya (in Russ.).] 2008;10(4-5):307-318. https://doi.org/10.15789/1563-0625-2008-4-5-307-318
19. medbiol.ru [интернет]. Рак в эпигенетических исследованиях. [Cancer in epigenetic studies]. Доступ по ссылке: <http://medbiol.ru/medbiol/epigenetica/001f4c86.htm>
20. rusbiotech.ru  [интернет]. Петраш Н. Роль метилирования ДНК в канцерогенезе. The role of DNA methylation in carcinogenesis. Доступ по ссылке: http://rusbiotech.ru/article/rol-metilirovaniya-dnk-v-kancerogeneze/
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: 10.1186/gb-2012-13-10-r84.
22. Ivorra C, Fraga MF, Bayón GF, et al. DNA methylation patterns in newborns exposed to tobacco in utero. *J Transl Med.* 2015;13:25. doi: 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.* 201;151(10):4756-64. doi: 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;105:14076–14081. doi: 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. 2013.16;105(20):1571-8. doi: 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:10.1186/1755-8794-7-5
27. Cano A, Buqué X, Martínez-Uña M, et al. Methionine adenosyltransferase 1A gene deletion disrupts hepatic very low-density lipoprotein assembly in mice. *Hepatology.* 2011;54(6):1975-86. doi: 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):1982-8. doi: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: 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):1234-45.doi: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: 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. doi: 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):285-92. doi: 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: 10.2217/whe.14.62.
37. Castro GD, Delgado de Layño AM, 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):11-8. doi: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):367-75. doi: 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. *The American journal of clinical nutrition.* 2007;86:14–24. doi: 10.1093/ajcn/86.1.14.
40. Чагай Н.Б. *Метаболические нарушения и их коррекция при синдроме хронической ановуляции.* Дисс… док.мед.наук. - Москва; 2012. [Chagay NB. Metabolicheskie-narusheniya i ikh korrektsiya pri syndrome khronicheskoi anovulyatsii. dissertation] Moscow; 2012. (in Russ)] Доступно по : https://elibrary.ru/author\_items.asp?authorid=582971&pubrole=100&show\_refs=1&show\_option=0. Ссылка активна на 20.01.2019
41. Rai V. The methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and breast cancer risk in Asian populations. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;15(14):5853-60. doi:10.7314/APJCP.2014.15.14.5853
42. 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):5775-85. doi: 10.1007/s11033-014-3450-9
43. 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:10.21010/ajtcam.v13i5.11
44. 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):779-84. doi: 10.1007/s10549-010-0892-1.
45. 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):213-7. doi: 10.1007/s10549-010-0755-9.
46. 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):2323-8. doi:10.7314/apjcp.2014.15.5.2323.
47. Chen P, Li C, Li X, et al. Higher dietary folate intake reduces the breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *British Journal of Cancer*. 2014;110(9):2327-2338. doi:10.1038/bjc.2014.155.
48. 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):213-24. doi: 10.1007/s10549-015-3628-4.
49. Gu F, Caporaso NE, Schairer C, et al. Urinary concentrations of estrogens and estrogen metabolites and smoking in caucasian women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2012;22(1):58-68. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-12-0909.
50. Peng J1, Xu X, Mace BE, et al. Estrogen metabolism within the lung and its modulation by tobacco smoke. *Carcinogenesis.* 2013;34(4):909-15. doi: 10.1093/carcin/bgs402.
51. O'Neill B, Lauterstein D, Patel JC, Zelikoff JT, Rice ME. Striatal dopamine release regulation by the cholinergic properties of the smokeless tobacco, gutkha. *ACS Chem Neurosci*. 2015;6(6):832-7. doi: 10.1021/cn500283b.

Начало формы

1. Wolk R, Shamsuzzaman AS, Svatikova A, et al. Hemodynamic and autonomic effects of smokeless tobacco in healthy young men. *Journal of the American College of Cardiology.* 2005;15;45(6):910-4. doi.org/10.1016/j.jacc.2004.11.056
2. Eshleman AJ, Stewart E, Evenson AK, et al. Metabolism of catecholamines by catechol-O-methyltransferase in cells expressing recombinant catecholamine transporters. *Journal of Neurochemistry.* 1997;69(4):1459-66. doi.org/10.1046/j.1471-4159.1997.69041459.x
3. 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 Sciences.* 2014;6;110(1):1-7. doi: 10.1016/j.lfs.2014.05.014.
4. 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:10.3389/fpsyt.2010.00016
5. Breton CV, Byun H-M, Wenten M, et al. Prenatal Tobacco Smoke Exposure Affects Global and Gene-specific DNA Methylation. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.* 2009;180(5):462-467. doi:10.1164/rccm.200901-0135OC.
6. 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):1791-802. doi: 10.1007/s10552-015-0672-7
7. Besingi W, Johansson A. Smoke-related DNA methylation changes in the etiology of human disease. Human Molecular Genetics. 2014;23(9):2290-7. doi: 10.1093/hmg/ddt621.

### Таблицы

### Рисунки



(Рис. 1. Метаболизм метионина, трансметилирование (ДНК-метилирование), реметилирование.

Цикл фолиевой кислоты

1) 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. (Адаптировано из Lu SC. et al.[13])

Ген *MTHFR* кодирует синтез фермента метилентетрагидрофолатредуктазы (MTHFR), катализирует восстановление 5,10-MTHF в 5-MTHF.

Ген *MTRR* кодирует синтез фермента метионин-синтазы-редуктазы (MSR), катализирует обратное превращение гомоцистеина в метионин. Метильная группа переносится на витамин В12, который затем отдает ее гомоцистеину, образуя метионин с помощью MS. Ген MTR кодирует цитоплазматический фермент MS. Однако в некоторых случаях В12 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 Varela-Rey M. et al. [32])

### Информация об авторах

**\*Чагай Наталья Борисовна**,д.м.н. [Natalia B. Chagay, MD, PhD]; адрес: Россия, 355000 Ставрополь, улица Ленина, д. 304, [address: Lenina Street, 304, 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