

УДК 616-092

Роль полиморфных маркёров генов *GSTP1* и *MTHFR* в снижении чувствительности к терапии доксорубицином у пациенток с раком молочной железы

Лукина С.С.^{1,2}, Заварыкина Т.М.³, Иванова Н.А.¹, Пронина И.В.¹, Казубская Т.П.⁴,
Круглова М.П.², Рябчиков Д.А.⁴, Логинов В.И.¹, Бурдённий А.М.^{1,3}

- ¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии». 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8
- ² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2
- ³ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля» Российской академии наук. 119334, Москва, ул. Косыгина, д. 4
- ⁴ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации. 115478, Москва, Каширское ш., д. 23

Рак молочной железы (РМЖ), является заболеванием, в патогенезе которого принимают участие множество различных факторов, в том числе и генетические, а именно однонуклеотидные замены в генах биотрансформации ксенобиотиков и одноуглеродного обмена. В частности, изменения в генах *GSTP1* и *MTHFR*, влияют на риск развития РМЖ, и могут приводить к нечувствительности опухоли к препаратам антрациклинового ряда, например, к доксорубицину.

Целью данной работы являлось изучение влияния полиморфных маркёров *rs1695* гена *GSTP1* и *rs1801133* и *rs1801131* гена *MTHFR* на риск развития РМЖ и чувствительность к терапии доксорубицином.

Методы. В работу было включено 239 больных РМЖ из Москвы и Московской области, для которых был установлен диагноз и клинические патоморфологические особенности, включая иммуногистологический статус опухоли. В качестве популяционного контроля использовали сопоставимую по возрасту выборку онкологически здоровых женщин ($n = 200$). Определение генотипов полиморфных маркёров *rs1695*, *rs1801133*, *rs1801131* проводилось методом анализа кривых плавления ДНК с помощью ПЦР «в реальном времени» на амплификаторе “Real-time CFX96 Touch” (Bio-Rad, США) с использованием готовой смеси для ПЦР qPCRmix-HS (Евроген, Россия).

Результаты. Выявлены статистически значимые ассоциации полиморфного маркёра *rs1695* гена *GSTP1* и *rs1801133* гена *MTHFR* с риском развития РМЖ ($OR = 1,15$, $CI_{95\%} = 1,14-2,00$, $p = 0,0114$ и $OR = 1,57$, $CI_{95\%} = 1,19-2,08$, $p = 0,0023$, соответственно). При анализе ассоциации изученных полиморфных маркёров с эффективностью ответа на химиотерапию доксорубицином было показано, что в группе больных с «плохим» ответом на химиотерапию выявлялось значимое увеличение частоты аллеля Val полиморфного маркёра *rs1695* гена *GSTP1* и аллеля C полиморфного маркёра *rs1801133* гена *MTHFR*. Нами также выявлена статистически значимая ассоциация полиморфного маркёра *rs1801133* гена *MTHFR* ($p = 0,0397$) с выживаемостью больных с РМЖ.

Заключение. Полученные нами результаты дополняют информацию о причинах возникновения резистентности к доксорубицину, и дают возможность сформировать группы риска с негативным ответом на данную химиотерапию.

Ключевые слова: рак молочной железы; ген *GSTP1*; ген *MTHFR*; доксорубицин; риск развития; чувствительность; выживаемость.

Для цитирования: Лукина С.С., Заварыкина Т.М., Иванова Н.А., Казубская Т.П., Круглова М.П., Рябчиков Д.А., Логинов В.И., Бурдённий А.М. Роль полиморфных маркёров генов *GSTP1* и *MTHFR* в снижении чувствительности к терапии доксорубицином у пациенток с раком молочной железы. *Патогенез*. 2020; 18(3): 53-60.

DOI: 10.25557/2310-0435.2020.03.53-60

Для корреспонденции: Бурдённий Алексей Михайлович, e-mail: burdenny@gmail.com

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания №0520-2020-0030

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 28.04.2020.

The role of *GSTP1* and *MTHFR* gene polymorphic markers in the decreased response to doxorubicin therapy of breast cancer patients

Lukina S.S.^{1,2}, Zavarykina T.M.³, Ivanova N.A.¹, Пронина И.В.¹, Kazubskaya T.P.⁴, Kruglova M.P.², Ryabchikov D.A.⁴, Loginov V.I.¹, Burdenny A.M.^{1,3}

¹ Institute of General Pathology and Pathophysiology, Baltijskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Trubetskaya Str. 8, Bldg. 2, Moscow 119991, Russian Federation

³ N.M. Emanuel Institute for Biochemical Physics, Kosygina Str. 4, Moscow 119334, Russian Federation

⁴ N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Kashirskoe Shosse 23, Moscow 115478, Russian Federation

Background. Breast cancer (BC) is a multifactorial disease. Different factors contribute to the BC pathogenesis, including genetic factors, such as single-nucleotide variations in genes of xenobiotic biotransformation and one-carbon metabolism. Specifically, changes in *GSTP1* and *MTHFR* genes influence the risk of BC and may result in a decreased response of the tumor to anthracycline drugs, such as doxorubicin.

Aim. The aim of this study was to evaluate the effect of polymorphic markers, rs1695 of the *GSTP1* gene and rs1801133 and rs1801131 of the *MTHFR* gene, on the risk of BC and sensitivity to the doxorubicin therapy.

Methods. The study included 239 BC patients from Moscow and the Moscow Region with established clinical pathomorphological features of the tumor, including the immune histological status. The population control group consisted of age-matched women without an oncological disease ($n = 200$). Genotypes of rs1695, rs1801133, and rs1801131 polymorphic markers were determined by analysis of DNA melting curves with real-time PCR performed on a Real-time CFX96 Touch amplifier (Bio-Rad, USA) with a qPCRmix-HS ready-to-use PCR kit (Eurogen, Russia).

Results. The study showed statistically significant associations of the *GSTP1* gene rs1695 polymorphic marker and the *MTHFR* gene rs1801133 polymorphic marker with the risk of BC ($OR = 1.15$, $CI_{95\%} = 1.14-2.00$; $p = 0.0114$ and $OR = 1.57$, $CI_{95\%} = 1.19-2.08$; $p = 0.0023$, respectively). The study of polymorphic marker association with response to the doxorubicin chemotherapy showed that in the group of patients with a poor response to chemotherapy, frequencies of the Val allele in the *GSTP1* gene rs1695 polymorphic marker and the C allele in the *MTHFR* gene rs1801133 polymorphic marker were significantly increased. Also, the *MTHFR* gene rs1801133 polymorphic marker ($p = 0.0397$) was significantly associated with survival of BC patients.

Conclusion. The results of this study supplemented information about causes for resistance to doxorubicin and will allow isolating groups at risk with a negative response to the doxorubicin chemotherapy.

Key words: breast cancer; *GSTP1* gene; *MTHFR* gene; doxorubicin; risk of development; sensitivity; survival.

For citation: Lukina S.S., Zavarykina T.M., Ivanova N.A., Kazubskaya T.P., Kruglova M.P., Ryabchikov D.A., Loginov V.I., Burdenny A.M. [The role of *GSTP1* and *MTHFR* gene polymorphic markers in the decreased response to doxorubicin therapy of breast cancer patients]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2020; 18(4): 53-60. (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2020.03.53-60

For correspondence: Burdenny A.M., e-mail: burdenny@gmail.com

Funding. The study was performed as a part of the State Assignment #0520-2020-0030.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 28.04.2020.

Введение

Рак молочной железы (РМЖ) относится к опухолю эпителиального происхождения и является наиболее распространенным многофакторным онкологическим заболеванием у женщин [1, 2]. Наряду с эпигенетическими факторами, не затрагивающими изменение структуры ДНК, важнейшую роль играют и генетические факторы, например, однонуклеотидные замены в генах ключевых процессов, в частности биотрансформации ксенобиотиков, в том числе лекарственных веществ (ЛВ), и/или одноуглеродного обмена [3]. Предполагают, что наиболее значимо на фармакокинетику и фармакодинамику ЛВ влияют полиморфные маркеры (например, rs1695 гена *GSTP1*), приводящие к изменению структуры белкового продукта гена и имеющие достаточно высокую частоту встречаемости в популяции. Их влияние выражается в том, что при определенных вариантах гена введение того или иного

препарата может не дать требуемого эффекта или быть малоэффективным [4]. Результаты исследований в области фармакогенетики и фармакогеномики важны для прогноза эффективности лечения, рецидива опухоли и выживаемости пациентов [5].

По данным международных источников, полиморфные маркеры ряда генов влияют на эффективность терапии, применяемой при лечении РМЖ [6], в том числе и терапии доксорубицином [7].

Доксорубицин относится к классу антрациклинов, механизм действия которых включает интеркаляцию ДНК, генерацию свободных радикалов и нарушение репарации ДНК [8]. Доксорубицин метаболизируется в печени ферментами I фазы биотрансформации ксенобиотиков альдокеторедуктазой и карбонилредуктазой (CBR1 и CBR3) в активный метаболит, доксорубинол, который затем детоксифицируется ферментами II фазы семейства глутатион-трансфераз (GST), например, pGSTP1.

Ген *GSTP1* локализован в локусе 11q13 [9]. Ген состоит из 7 экзонов, в которых описано большое число полиморфных маркёров, но только 2 из них являются функционально значимыми [10]. Наиболее значимым и изученным из них является полиморфный маркёр *Ile105Val* (*A>G*) гена *GSTP1* (*rs1695*), изменение которого приводит к резкому увеличению эффективности работы рGSTP1 [10]. Показано, что *GG* (*Val/Val*) генотип полиморфного маркёра *rs1695* гена *GSTP1* существенно снижает эффективность доксорубина у пациенток с РМЖ [11] и приводит к развитию тяжелых форм нейропении [12].

Также важным аспектом является связь доксорубина с полиморфными маркёрами генов однонуклеотидного обмена, например, геном *MTHFR*, кодирующим фермент метилентетрагидрофолатредуктазу. Ген *MTHFR* расположен на коротком плече хромосомы 1 (1p36.3), состоит из 14 экзонов, имеет два промотора и несколько изоформ [13]. Существует ряд однонуклеотидных полиморфных вариантов этого гена, ассоциированных со снижением активности фермента, но только два из них являются функционально значимыми: *C677T* (*rs1801133*) в 4-м экзоне и *A1298C* (*rs1801131*) в 7-м экзоне. Частота встречаемости минорного Т-аллеля (*C677T*) в европейской популяции составляет 30%, а С-аллеля (*A1298C*) – 10%. Предрасполагающие аллели ассоциированы со снижением активности фермента. Следует подчеркнуть, что у людей, гомозиготных по двум предрасполагающим генотипам, активность фермента падает до 10%, тогда как гетерозиготы имеют 50% активности фермента [3]. По данным крупного проспективного исследования, затронувшего большое число пациентов из разных стран, было показано, что генотип *TT* полиморфного маркёра *C677T* связан с высоким риском развития РМЖ в Восточной Азии, на Ближнем Востоке и Европе, а генотип *CC* полиморфного маркёра *A1298C* – с высоким риском в Азии и Южной Америке [14]. В других работах, показана ассоциация полиморфного маркёра *C677T* гена *MTHFR* с риском развития люминального-Б и HER+ гистотипов РМЖ [15], а также связь Т-аллеля этого полиморфного маркёра с риском развития тяжелой нейропении при использовании адьювантной химиотерапии антрациклинами [16].

Целью данной работы стало изучение влияния полиморфных маркёров *rs1695* гена *GSTP1* и *rs1801133* и *rs1801131* гена *MTHFR* на риск развития РМЖ и чувствительность к терапии доксорубином.

Материалы и методы исследования

Образцы РМЖ собраны и морфологически охарактеризованы в НМИЦ онкологии имени Н.Н. Блохина Минздрава России. Работа проведена с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности в соответствии с федеральным законом «Об основах

охраны здоровья граждан в Российской Федерации» от 21.11.2011 № 323-ФЗ; было получено разрешение локального этического комитета, а также информированное согласие больных.

В работу было включено 239 больных РМЖ из Москвы и Московской области (средний возраст 53 года, диапазон 37-72 лет), для которых установлен диагноз, клинические и патоморфологические особенности, включая иммуногистохимический статус опухоли. В качестве популяционного контроля использовали сопоставимую по возрасту выборку онкологически здоровых женщин ($n = 200$, средний возраст 55 лет, диапазон 40-80 лет). В группе больных РМЖ были выделены подгруппы люминального А типа РМЖ (*LumA*, $n = 57$), люминального Б типа (*Her2*-положительного и *Her2*-отрицательного; *LumB*, $n = 112$) и группа нелюминального РМЖ, в которую вошли *Her2*-положительный нелюминальный тип и трижды негативный тип РМЖ (*notLum*, $n = 70$). В последнюю группу больные объединены на основании отсутствия экспрессии рецепторов гормонов в опухоли.

Все больные получали комбинированное лечение в объёме оперативного вмешательства, а также гормональной терапии и химиотерапии по показаниям. Всем пациентам на 1-м этапе выполнено хирургическое лечение – 188 (78,6%) в объёме радикальная мастэктомия, 51 (21,4%) – в объёме радикальная резекция. Адьювантную ХТ была проведена всем 239 пациенткам с РМЖ. Использовали схемы: АС – у 129 (54,0%) из 239 пациентов; САФ: – у 40 (16,7%), АС+таксаны – у 33 (13,8%), FAC – у 26 (10,9%), и в отдельных случаях АТ – 5 (2,1%) и САФ+АТ у 6 (2,5%). Пациенты с *Her2*(+) статусом получили таргетную анти *Her2*-терапию. Лучевая терапия в дозе 45-50 Гр проведена 19 (27,1%) пациентам. Гормонотерапия препаратами Тамоксифен, Аримедекс и Фемара назначена 175 (78,6%) пациентам. Все больные, получившие комбинированное лечение, были разделены на две группы: в первой – пациенты у которых прогрессирование отсутствовало ($n = 156$); во второй – с прогрессированием заболевания, а именно метастазирование и/или рецидивы ($n = 83$).

Материалом для исследования служили образцы гистологически неизменённой ткани молочной железы пациенток ($n = 239$) и кровь онкологически здоровых женщин ($n = 200$).

Для оценки полиморфных маркёров генов *GSTP1* и *MTHFR* использовали ДНК, выделенную стандартным методом с использованием фенол-хлороформной очистки. Качественную и количественную оценку ДНК проводили на спектрофотометре NanoDrop 1000 (NanoDrop, США). Изучение исследуемых полиморфных локусов выполняли с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени на амплификаторе CFX96 (Bio-Rad, США) методом анализа кривых плавления. При работе использовали набор qPCRmix-HS SYBR,

предназначенный для ПЦР в реальном времени с интеркалирующим красителем SYBR Green I, в соответствии с протоколом производителя (Евроген, Россия). Последовательности олигонуклеотидных праймеров и условия проведения ПЦР взяты из работ [17, 18].

Аmplификацию проводили в системе Bio-Rad CFX96 Real-Time PCR Detection System (США) согласно протоколу амплификации для использованного набора и программным настройкам Bio-Rad CFX96 Real-Time PCR Detection System. Плавление продуктов амплификации выполняли в диапазоне 55–95°C с увеличением температуры на 0,5°C каждые 10 с (рис. 1) [5]. Обработку полученных данных осуществляли в программной среде Precision Melt Analysis Software (Bio-Rad).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием закона генетического равновесия Харди-Вайнберга для аутосомных признаков. Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета программ IBM SPSS Statistics 22 и Statistica 8.0. При сравнении частот встречаемости генотипов использовали критерий Пирсона. Комплексную оценку взаимосвязей между исследуемыми генотипами и риском заболевания проводили с помощью логистической регрессии, определяя отношение шансов (OR) и 95% доверительный интервал (CI_{95%}) при значении $p \leq 0,05$. Общая выживаемость больных РМЖ анализировали с помощью кривых Каплана-Майера и log-rank теста. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и обсуждение

Нами было изучено распределение частот аллелей и генотипов полиморфных маркёров *rs1695* гена

GSTP1 и *rs1801133* и *rs1801131* гена *MTHFR* в контрольной группе ($n = 200$) и группе больных РМЖ ($n = 239$).

Ассоциации полиморфного маркёра *rs1801131* гена *MTHFR* ни с риском развития РМЖ, ни с патоморфологическими параметрами опухоли, а также с резистентностью к доксорубину выявлено не было.

Для предрасполагающего генотипа *GG* полиморфного маркёра *rs1695* гена *GSTP1* выявлена ассоциация с риском развития РМЖ (табл. 1). Его частота в группе больных оказалась выше в 2 раза по сравнению с группой контроля, при этом относительный риск развития РМЖ был повышен (OR = 1,51, $p = 0,0114$). Значимая ассоциация также выявлена и для предрасполагающего генотипа *TT* полиморфного маркёра *rs1801133* гена *MTHFR* (OR = 1,57, $p = 0,0023$, табл. 1). Полученные нами данные об участии исследованных полиморфных маркёров в увеличении риска возникновения РМЖ дополняют результаты международных исследований, в которых, показаны схожие закономерности [19, 20].

Далее нами была изучена взаимосвязь распределения частот генотипов полиморфных маркёров *rs1695* гена *GSTP1* и *rs1801133* гена *MTHFR* с эффективностью терапии доксорубицином в общей группе больных РМЖ и в группах пациенток с люминальным А и Б гистотипом опухоли. Все больные получали доксорубин в стандартной дозе на цикл 50 мг/м², в первый и восьмой дни цикла. Оценку эффективности лечения проводили на основании наличия или отсутствия прогрессирования заболевания, по результатам которой сформированы 2 группы: доксорубин-чувствительная (больные без выявленных отдаленных метастазов), и доксорубин-резистентная (больные с прогрессированием заболевания).

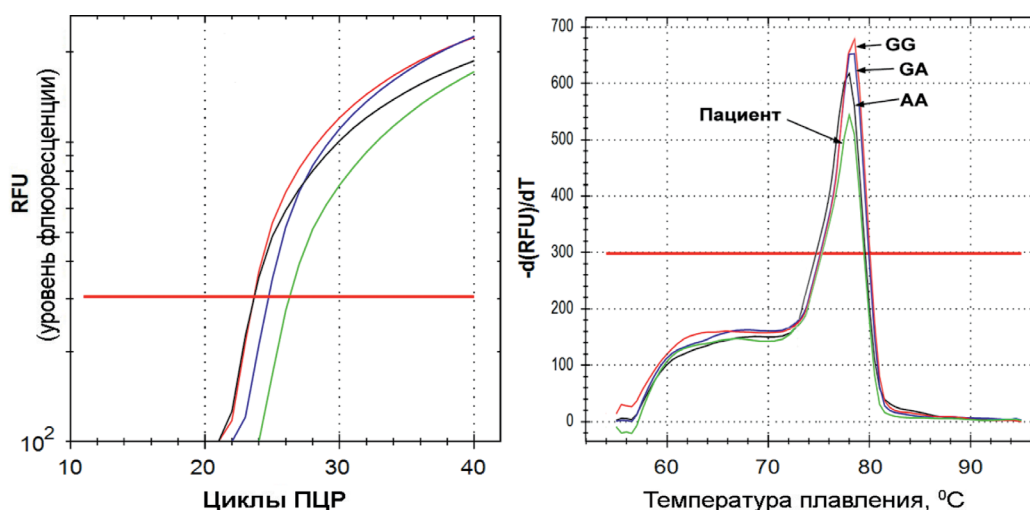


Рис. 1. Пример анализа полиморфного маркёра *rs1695* гена *GSTP1* с использованием кривых плавления. **А** – кривые накопления полиморфного маркёра *rs1695* гена *GSTP1* в реальном времени. **Б** – температурные кривые плавления продукта амплификации полиморфного маркёра *rs1695* гена *GSTP1*. *AA (Ile/Ile)* – контроль «верхнего» гомозиготного генотипа (норма); *AG (Ile/Val)* – контроль гетерозиготного генотипа; *GG (Val/Val)* – контроль «нижнего» гомозиготного генотипа (минорная гомозигота).

При анализе ассоциации полиморфных маркёров *rs1695* гена *GSTP1* и *rs1801133* гена *MTHFR* с эффективностью ответа на химиотерапию было показано, что в группе больных с хорошим ответом на химиотерапию выявлялось значимое увеличение частоты аллеля *Val* полиморфного маркёра *rs1695* гена *GSTP1* и аллеля *C* полиморфного маркёра *rs1801133* гена *MTHFR* (OR = 2,00, $p = 0,0048$ и OR = 2,12, $p = 0,0032$, соответственно) (табл. 2). Ассоциации полиморфных маркёров исследованных генов с чувствительностью к доксорубину в зависимости от иммуногистохимического типа РМЖ выявлено не было. Следует подчеркнуть, что полученные нами результаты согласуются с данными зарубежных авторов о связи полиморфных маркёров исследованных генов с чувствительностью к химиотерапии [21, 22].

Для оценки потенциальной прогностической значимости исследуемых маркёров *rs1695* гена *GSTP1* и *rs1801133* гена *MTHFR* провели анализ влияния данных маркёров на общую выживаемость у пациенток как с РМЖ, так и его отдельными иммуногистотипами. Для этого из выборки больных было отобрано 132 пациентки, для которых имелись данные для проведения анализа медиана наблюдения (Me) составила 96 месяцев (12–192 месяца). На основе этой выборки ($n = 132$) также были сформированы группы в зависимости от иммуногистохимического статуса РМЖ:

люминальный А ($n = 33$, Me = 84 (12-180) месяца), люминальный Б ($n = 52$, Me = 96 (12-192) месяцев) и нелюминальный ($n = 47$, Me = 96 (12-192) месяцев).

Значимые результаты связи исследованных полиморфных маркёров с выживаемостью были показаны для полиморфного маркёра *rs1801133* гена *MTHFR*. Так, в общей группе больных РМЖ показано, что у пациентов с хотя бы одним аллелем *T* (СТ+ТТ подгруппа) полиморфного маркёра *rs1801133* гена *MTHFR* медиана выживаемости пациенток составила 84 месяца. В то же время медиана выживаемости у пациенток с отсутствием аллеля *T* (подгруппа *CC*) составила 96 месяцев, $p = 0,0397$ (рис. 2, А).

Следует отметить, что картина выживаемости для полиморфного маркёра *rs1695* гена *GSTP1* была похожей во всех исследованных подгруппах РМЖ, рассмотренных в анализе, однако значимые результаты получены только при люминальном А подтипе РМЖ, с медианой выживаемости в группе пациентов с носительством аллеля *Val* равной 72 месяца при $p = 0,027$, медиана наблюдения для больных с отсутствием аллеля *Val* составила 84 месяца (рис. 2, Б). Следует отметить, что подобных корреляций указанных маркёров с выживаемостью в зарубежной литературе отмечено не было. Других достоверных корреляций с выживаемостью для изученных полиморфных маркёров *rs1695* и *rs1801133* найдено не было.

Таблица 1

Ассоциация генотипов полиморфных маркёров *rs1695* гена *GSTP1* и *rs1801133* гена *MTHFR* с риском развития рака молочной железы

Маркёр	Генотип	Больные $n = 239$	Контроль $n = 200$	χ^2	p	OR	CI _{95%}
<i>rs1695</i>	<i>AA</i>	0,397	0,490	8,95	0,0114	0,66	0,50-0,88
	<i>AG</i>	0,418	0,420			0,81	0,62-1,07
	<i>GG</i>	0,184	0,090			1,51	1,14-2,00
<i>rs1801133</i>	<i>CC</i>	0,377	0,470	12,11	0,0023	0,64	0,48-0,84
	<i>CT</i>	0,431	0,450			0,75	0,57-0,99
	<i>TT</i>	0,192	0,080			1,57	1,19-2,08

Примечания: здесь и далее жирным шрифтом выделены статистически значимые результаты для предрасполагающего генотипа в группах больных. Значения χ^2 и p отражают статистическую значимость найденных отклонений. Значения относительного риска (OR) и доверительного интервала показывают нормальность распределения полученных результатов относительно всего набора данных.

Таблица 2

Ассоциация генотипов полиморфных маркёров *rs1695* гена *GSTP1* и *rs1801133* гена *MTHFR* с резистентностью к химиотерапии доксорубином при РМЖ

Маркёр	Генотип	Доксорубин чувствительные $n = 156$	Доксорубин резистентные $n = 83$	χ^2	p	OR	CI _{95%}
<i>rs1695</i>	<i>AA</i>	0,340	0,506	10,67	0,0048	0,50	0,33-0,75
	<i>AG</i>	0,423	0,410			0,74	0,50-1,10
	<i>GG</i>	0,237	0,084			2,00	1,43-2,99
<i>rs1801133</i>	<i>TT</i>	0,167	0,241	11,82	0,0027	0,54	0,37-0,79
	<i>TC</i>	0,378	0,530			0,85	0,57-1,25
	<i>CC</i>	0,455	0,229			1,85	1,27-2,72

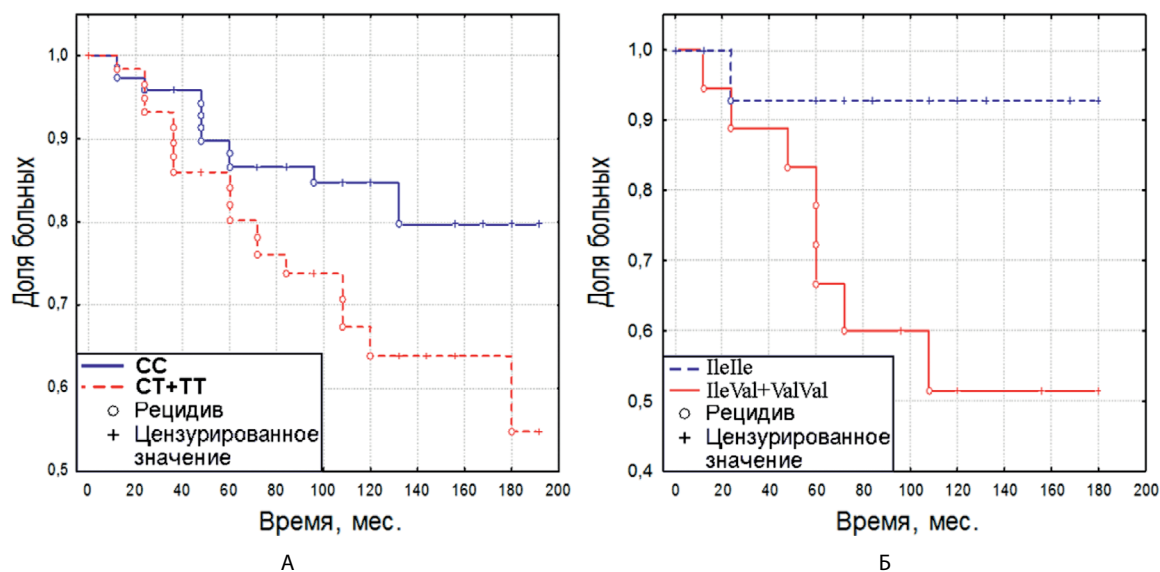


Рис. 2. Кривые Каплана-Мейера выживаемости для полиморфных маркёров *rs1801133* гена *MTHFR* на общей выборке больных РМЖ (132 пациента) (А) и *rs1695* гена *GSTP1* при люминальном А подтипе РМЖ ($n = 33$) (Б).

Заключение

Таким образом, в настоящей работе изучено распределение частот генотипов трёх полиморфных маркёров *rs1695* гена *GSTP1* и *rs1801133* и *rs1801131* гена *MTHFR* в группе больных РМЖ, включая его иммуногистотипы. Определены роли этих маркёров как факторов риска развития этого заболевания, а также их место в возникновении устойчивости к адъювантной терапии доксорубицином (*Doxorubicin*) у больных РМЖ. Показана связь данных маркёров с общей выживаемостью больных. Обнаружена повышенная частота предрасполагающих генотипов полиморфных маркёров *rs1695* гена *GSTP1* и *rs1801133* гена *MTHFR* у больных РМЖ по сравнению со здоровыми женщинами ($p = 0,0114$ и $p = 0,0023$). Выявлена связь носительства предрасполагающего генотипа полиморфного маркёра *rs1695* гена *GSTP1* с риском развития резистентности к химиотерапии доксорубицином в общей группе больных с раком молочной железы ($p = 0,0048$). В работе показано влияние полиморфного маркёра *rs1801133* гена *MTHFR* (носительство аллеля *T*) на общую выживаемость больных. Также, показано что носительство аллеля *Val* полиморфного маркёра *rs1695* гена *GSTP1* значимо влияет на выживаемость больных при люминальном А подтипе РМЖ.

Выявленные особенности требуют клинического подтверждения на большей выборке больных в сочетании с другими генетическими и эпигенетическими факторами, влияющими на развитие РМЖ и возникновения устойчивости к адъювантной химиотерапии. Тем не менее, наши данные говорят о перспективности дальнейшего исследования полиморфных маркёров для использования при разработке

новых методов прогнозирования, профилактики и лечения рака молочной железы, а также для формирования групп женщин с возможным негативным ответом на терапию доксорубицином или его аналогами.

Список литературы

- Кулигина Е.Ш. Эпидемиологические и молекулярные аспекты рака молочной железы. *Практическая онкология*. 2010; 11(4): 203-216.
- Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I., Siegel, R.L., Torre, L.A., Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* 2018; 68(6): 394-424. DOI: 10.3322/caac.21492
- Chen X, Ahamada H, Zhang T, Bai Z, Wang C. Association of Intake Folate and Related Gene Polymorphisms with Breast Cancer. *J. Nutr. Sci. Vitaminol (Tokyo)*. 2019; 65(6): 459-469. DOI: 10.3177/jnsv.65.459
- Rodríguez-Vicente A.E., Lumbreras E., Hernández J.M., Martín M., Calles A., Otín C.L., Algarrá S.M., Pérez D., Taron M. Pharmacogenetics and pharmacogenomics as tools in cancer therapy. *Drug. Metab. Pers. Ther.* 2016; 31(1): 25-34. DOI: 10.1515/dmpt-2015-0042
- Заварыкина Т.М., Тюляндина А.С., Логинов В.И., Бурдённый А.М., Аткарская М.В., Бреннер П.К., Капралова М.А., Стенина М.Б. Ассоциация полиморфных маркеров генов XRCC1, ERCC2 и CDKN1A с длительностью времени без прогрессирования рака яичников после химиотерапии производными платины и таксанами. *Патогенез*. 2019; 17(1): 72-81. DOI: 10.25557/2310-0435.2019.01.72-81
- Hertz D.L., Rae J.M. Pharmacogenetic Predictors of Response. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2016; 882: 191-215. DOI: 10.1007/978-3-319-22909-6_8
- Tecza K., Pamula-Pilat J., Lanuszewska J., Grzybowska E. Genetic polymorphisms and response to 5-fluorouracil, doxorubicin and cyclophosphamide chemotherapy in breast cancer patients. *Oncotarget*. 2016; 7(41): 66790-66808. DOI: 10.18632/oncotarget.11053
- Корман Д.Б. Мишени и механизмы действия противоопухолевых препаратов. М.: Практическая медицина, 2014. 333 с.
- Nebert D.W., Vasiliou V. Analysis of the glutathione S-transferase (GST) gene family. *Hum. Genomics*. 2004; 1(6): 460-464. DOI: 10.1186/1479-7364-1-6-460
- Peklak-Scott C., Smitherman P.K., Townsend A.J., Morrow C.S. Role of glutathione S-transferase P1-1 in the cellular detoxifica-

- tion of cisplatin. *Mol. Cancer Ther.* 2008; 7(10): 3247-3355. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-08-0250
11. Oliveira A.L., Rodrigues F.F., Santos R.E. Aoki T., Rocha M.N., Longui C.A., Melo M.B. GSTT1, GSTM1, and GSTP1 polymorphisms and chemotherapy response in locally advanced breast cancer. *Genet. Mol. Res.* 2010; 9(2): 1045-1053. DOI: 10.4238/vol9-2gmr726
 12. Sugishita M., Imai T., Kikumori T., Mitsuma A., Shimokata T., Shibata T., Morita S., Inada-Inoue M., Sawaki M., Hasegawa Y., Ando Y. Pharmacogenetic association between GSTP1 genetic polymorphism and febrile neutropenia in Japanese patients with early breast cancer. *Breast Cancer.* 2016; 23(2): 195-201. DOI: 10.1007/s12282-014-0547-x
 13. Izmirli M. A literature review of MTHFR (C677T and A1298C polymorphisms) and cancer risk. *Mol. Biol. Rep.* 2013; 40(1): 625-637. DOI: 10.1007/s11033-012-2101-2
 14. Gonzales M.C., Yu P., Shiao S.P. MTHFR Gene Polymorphism-Mutations and Air Pollution as Risk Factors for Breast Cancer: A Metaprediction Study. *Nurs. Res.* 2017; 66(2): 152-163. DOI: 10.1097/NNR.0000000000000206
 15. Naushad S.M., Pavani A., Rupasree Y., Divyya S., Deepti S., Digumarti R.R., Gottumukkala S.R., Prayaga A., Kutala V.K. Association of aberrations in one-carbon metabolism with molecular phenotype and grade of breast cancer. *Mol. Carcinog.* 2012; 51 Suppl 1: E32-41. DOI: 10.1002/mc.21830
 16. Ludovini V., Antognelli C., Rulli A., Foglietta J., Pistola L., Eliana R., Floriani I., Nocentini G., Tofanetti F.R., Piattoni S., Minenza E., Talesa V.N., Sidoni A., Tonato M., Crinò L., Gori S. Influence of chemotherapeutic drug-related gene polymorphisms on toxicity and survival of early breast cancer patients receiving adjuvant chemotherapy. *BMC Cancer.* 2017; 17(1): 502. DOI: 10.1186/s12885-017-3483-2
 17. Бурденный А.М., Казубская Т.П., Брага Э.А., Носиков В.В., Логинов В.И. Ассоциация полиморфных маркеров генов биотрансформации ксенобиотиков с раком молочной железы у женщин московского региона. *Молекулярная медицина.* 2012; 5: 30-34.
 18. Бурденный А.М., Логинов В.И., Казубская Т.П., Брага Э.А. Роль функциональных полиморфных маркеров C677T и A1298C гена MTHFR в патогенезе РМЖ у русских женщин московского региона. *Патогенез.* 2015, 13(3): 50-55.
 19. Song Z., Shao C., Feng C., Lu Y., Gao Y., Dong C. Association of glutathione S-transferase T1, M1, and P1 polymorphisms in the breast cancer risk: a meta-analysis. *Ther. Clin. Risk. Manag.* 2016; 12: 763-769. DOI: 10.2147/TCRM.S104339
 20. Марковский А.В. Роль полиморфизма генов фолатного метаболизма и сывороточных аминоктиолов в формировании различных гистологических типов рака молочной железы. *Забайкальский медицинский вестник.* 2019; 2: 40-47.
 21. Chaturvedi P., Tulsyan S., Agarwal G., Lal P., Agrawal S., Mittal R.D., Mittal B. Relationship of MTHFR and NQO1 Pharmacogenetics and Chemotherapy Clinical Outcomes in Breast Cancer Patients. *Biochem. Genet.* 2015; 53(7-8): 211-22. DI: 10.1007/s10528-015-9683-z
 22. Kong X., Li Z., Li X. GSTP1, GSTM1, and GSTT1 polymorphisms as predictors of response to chemotherapy in patients with breast cancer: a meta-analysis. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2016; 78(6): 1163-1173. DOI: 10.1007/s00280-016-3173-9
 23. Oliveira A.L., Rodrigues F.F., Santos R.E. Aoki T., Rocha M.N., Longui C.A., Melo M.B. GSTT1, GSTM1, and GSTP1 polymorphisms and chemotherapy response in locally advanced breast cancer. *Genet. Mol. Res.* 2010; 9(2): 1045-1053. DOI: 10.4238/vol9-2gmr726
 24. Sugishita M., Imai T., Kikumori T., Mitsuma A., Shimokata T., Shibata T., Morita S., Inada-Inoue M., Sawaki M., Hasegawa Y., Ando Y. Pharmacogenetic association between GSTP1 genetic polymorphism and febrile neutropenia in Japanese patients with early breast cancer. *Breast Cancer.* 2016; 23(2): 195-201. DOI: 10.1007/s12282-014-0547-x
 25. Izmirli M. A literature review of MTHFR (C677T and A1298C polymorphisms) and cancer risk. *Mol. Biol. Rep.* 2013; 40(1): 625-637. DOI: 10.1007/s11033-012-2101-2
 26. Gonzales M.C., Yu P., Shiao S.P. MTHFR Gene Polymorphism-Mutations and Air Pollution as Risk Factors for Breast Cancer: A Metaprediction Study. *Nurs. Res.* 2017; 66(2): 152-163. DOI: 10.1097/NNR.0000000000000206
 27. Naushad S.M., Pavani A., Rupasree Y., Divyya S., Deepti S., Digumarti R.R., Gottumukkala S.R., Prayaga A., Kutala V.K. Association of aberrations in one-carbon metabolism with molecular phenotype and grade of breast cancer. *Mol. Carcinog.* 2012; 51 Suppl 1: E32-41. DOI: 10.1002/mc.21830
 28. Ludovini V., Antognelli C., Rulli A., Foglietta J., Pistola L., Eliana R., Floriani I., Nocentini G., Tofanetti F.R., Piattoni S., Minenza E., Talesa V.N., Sidoni A., Tonato M., Crinò L., Gori S. Influence of chemotherapeutic drug-related gene polymorphisms on toxicity and survival of early breast cancer patients receiving adjuvant chemotherapy. *BMC Cancer.* 2017; 17(1): 502. DOI: 10.1186/s12885-017-3483-2
 29. Burdeny A.M., Kazubskaya T.P., Braga E.A., Nosikov V.V., Loginov V.I. [Ksenobiotic biotransformation genes polymorphic markers association with BC in Moscow region females]. *Moleculyarnaya medicina [Molecular medicine]*. 2012; 5: 30-34. (in Russian)
 30. Burdeny A.M., Loginov V.I. Kazubskaya T.P., Braga E.A. [The role of functioning polymorphic markers C677T and A1298C of MTHFR gene in BC pathogenesis in females of Moscow region]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2015, 13(3): 50-55. (in Russian)
 31. Song Z., Shao C., Feng C., Lu Y., Gao Y., Dong C. Association of glutathione S-transferase T1, M1, and P1 polymorphisms in the breast cancer risk: a meta-analysis. *Ther. Clin. Risk. Manag.* 2016; 12: 763-769. DOI: 10.2147/TCRM.S104339
 32. Markovskiy A.V. [The polymorphism role of folate metabolism genes and serum aminotols in different histological types of BC formation]. *Zabaykalskii meditsinskii vestnik [Transbaikalian Medical Bulletin]*. 2019; 2: 40-47. (in Russian)
 33. Chaturvedi P., Tulsyan S., Agarwal G., Lal P., Agrawal S., Mittal R.D., Mittal B. Relationship of MTHFR and NQO1 Pharmacogenetics and Chemotherapy Clinical Outcomes in Breast Cancer Patients. *Biochem. Genet.* 2015; 53(7-8): 211-22. DI: 10.1007/s10528-015-9683-z
 34. Kong X., Li Z., Li X. GSTP1, GSTM1, and GSTT1 polymorphisms as predictors of response to chemotherapy in patients with breast cancer: a meta-analysis. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2016; 78(6): 1163-1173. DOI: 10.1007/s00280-016-3173-9

References

1. Kuligina E.Sh. [Epidemiological and molecular aspects of BC]. *Prakticheskaya onkologiya [Practical oncology]*. 11(4): 203-216. (in Russian)
2. Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I., Siegel, R.L., Torre, L.A., Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* 2018; 68(6): 394-424. DOI: 10.3322/caac.21492
3. Chen X, Ahamada H, Zhang T, Bai Z, Wang C. Association of Intake Folate and Related Gene Polymorphisms with Breast Cancer. *J. Nutr. Sci. Vitaminol (Tokyo)*. 2019; 65(6): 459-469. DOI: 10.3177/jnsv.65.459
4. Rodríguez-Vicente A.E., Lumbreras E., Hernández J.M., Martín M., Calles A., Otin C.L., Algarrá S.M., Páez D., Taron M. Pharmacogenetics and pharmacogenomics as tools in cancer therapy. *Drug. Metab. Pers. Ther.* 2016; 31(1): 25-34. DOI: 10.1515/dmpt-2015-0042
5. Zavarykina T.M., Tjulandina A.S., Loginov V.I., Burdeny A.M., Atkarskaya M.V., Brenner P.K., Kapralova M.A., Stenina M.B. [Association of polymorphic markers of XRCC1, ERCC2, CDKN1A genes with progression free survival of ovarian cancer patients after platinum/taxanes-based chemotherapy]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2019; 17(1): 72-81. DOI: 10.25557/2310-0435.2019.01.72-81 (in Russian)
6. Hertz D.L., Rae J.M. Pharmacogenetic Predictors of Response. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2016; 882: 191-215. DOI: 10.1007/978-3-319-22909-6_8
7. Tecza K., Pamula-Pilat J., Lanuszewska J., Grzybowska E. Genetic polymorphisms and response to 5-fluorouracil, doxorubicin and cyclophosphamide chemotherapy in breast cancer patients. *Oncotarget.* 2016; 7(41): 66790-66808. DOI: 10.18632/oncotarget.11053
8. Korman D.B. [Targets and antitumor drugs mechanisms actions]. *M. Prakticheskaya medicina. [Practical medicine]*, 2014. 333 p. (in Russian)
9. Nebert D.W., Vasiliou V. Analysis of the glutathione S-transferase (GST) gene family. *Hum. Genomics.* 2004; 1(6): 460-464. DOI: 10.1186/1479-7364-1-6-460
10. Peklak-Scott C., Smitherman P.K., Townsend A.J., Morrow C.S. Role of glutathione S-transferase P1-1 in the cellular detoxification of cisplatin. *Mol. Cancer Ther.* 2008; 7(10): 3247-3355. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-08-0250
11. Oliveira A.L., Rodrigues F.F., Santos R.E. Aoki T., Rocha M.N., Longui C.A., Melo M.B. GSTT1, GSTM1, and GSTP1 polymorphisms and chemotherapy response in locally advanced breast cancer. *Genet. Mol. Res.* 2010; 9(2): 1045-1053. DOI: 10.4238/vol9-2gmr726
12. Sugishita M., Imai T., Kikumori T., Mitsuma A., Shimokata T., Shibata T., Morita S., Inada-Inoue M., Sawaki M., Hasegawa Y., Ando Y. Pharmacogenetic association between GSTP1 genetic polymorphism and febrile neutropenia in Japanese patients with early breast cancer. *Breast Cancer.* 2016; 23(2): 195-201. DOI: 10.1007/s12282-014-0547-x
13. Izmirli M. A literature review of MTHFR (C677T and A1298C polymorphisms) and cancer risk. *Mol. Biol. Rep.* 2013; 40(1): 625-637. DOI: 10.1007/s11033-012-2101-2
14. Gonzales M.C., Yu P., Shiao S.P. MTHFR Gene Polymorphism-Mutations and Air Pollution as Risk Factors for Breast Cancer: A Metaprediction Study. *Nurs. Res.* 2017; 66(2): 152-163. DOI: 10.1097/NNR.0000000000000206
15. Naushad S.M., Pavani A., Rupasree Y., Divyya S., Deepti S., Digumarti R.R., Gottumukkala S.R., Prayaga A., Kutala V.K. Association of aberrations in one-carbon metabolism with molecular phenotype and grade of breast cancer. *Mol. Carcinog.* 2012; 51 Suppl 1: E32-41. DOI: 10.1002/mc.21830
16. Ludovini V., Antognelli C., Rulli A., Foglietta J., Pistola L., Eliana R., Floriani I., Nocentini G., Tofanetti F.R., Piattoni S., Minenza E., Talesa V.N., Sidoni A., Tonato M., Crinò L., Gori S. Influence of chemotherapeutic drug-related gene polymorphisms on toxicity and survival of early breast cancer patients receiving adjuvant chemotherapy. *BMC Cancer.* 2017; 17(1): 502. DOI: 10.1186/s12885-017-3483-2
17. Burdeny A.M., Kazubskaya T.P., Braga E.A., Nosikov V.V., Loginov V.I. [Ksenobiotic biotransformation genes polymorphic markers association with BC in Moscow region females]. *Moleculyarnaya medicina [Molecular medicine]*. 2012; 5: 30-34. (in Russian)
18. Burdeny A.M., Loginov V.I. Kazubskaya T.P., Braga E.A. [The role of functioning polymorphic markers C677T and A1298C of MTHFR gene in BC pathogenesis in females of Moscow region]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2015, 13(3): 50-55. (in Russian)
19. Song Z., Shao C., Feng C., Lu Y., Gao Y., Dong C. Association of glutathione S-transferase T1, M1, and P1 polymorphisms in the breast cancer risk: a meta-analysis. *Ther. Clin. Risk. Manag.* 2016; 12: 763-769. DOI: 10.2147/TCRM.S104339
20. Markovskiy A.V. [The polymorphism role of folate metabolism genes and serum aminotols in different histological types of BC formation]. *Zabaykalskii meditsinskii vestnik [Transbaikalian Medical Bulletin]*. 2019; 2: 40-47. (in Russian)
21. Chaturvedi P., Tulsyan S., Agarwal G., Lal P., Agrawal S., Mittal R.D., Mittal B. Relationship of MTHFR and NQO1 Pharmacogenetics and Chemotherapy Clinical Outcomes in Breast Cancer Patients. *Biochem. Genet.* 2015; 53(7-8): 211-22. DI: 10.1007/s10528-015-9683-z
22. Kong X., Li Z., Li X. GSTP1, GSTM1, and GSTT1 polymorphisms as predictors of response to chemotherapy in patients with breast cancer: a meta-analysis. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2016; 78(6): 1163-1173. DOI: 10.1007/s00280-016-3173-9

Сведения об авторах:

Лукина Светлана Сергеевна — старший лаборант лаборатории патогеномики и транскриптомики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; студентка кафедры патологии человека Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Заварыкина Татьяна Михайловна — кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории химической физики биоаналитических процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля» Российской академии наук

Иванова Наталья Анатольевна — младший научный сотрудник лаборатории патогеномики и транскриптомики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

Пронина Ирина Валерьевна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патогеномики и транскриптомики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»

Казубская Татьяна Павловна — доктор медицинских наук, врач-онкогенетик, старший научный сотрудник лаборатории клинической онкогенетики Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Круглова Мария Петровна — старший преподаватель кафедры патологии человека Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Рябчиков Денис Анатольевич — доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения хирургии опухолей молочных желез Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Логинов Виталий Игоревич — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патогеномики и транскриптомики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; <http://orcid.org/0000-0003-2668-8096>

Бурдённый Алексей Михайлович — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патогеномики и транскриптомики Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; младший научный сотрудник лаборатории химической физики биоаналитических процессов Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт биохимической физики имени Н.М. Эмануэля» Российской академии наук; <https://orcid.org/0000-0002-9398-8075>