

АССОЦИИИ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ИММУННЫХ РЕАКЦИЙ НА ХИМИЧЕСКИЕ КАНЦЕРОГЕНЫ И СТЕРОИДНЫЕ ГОРМОНЫ С ГЕНЕТИЧЕСКИМ ПОЛИМОРФИЗМОМ ФЕРМЕНТОВ РЕПАРАЦИИ ДНК ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

© 2019 г. Е. Г. Поленок¹, В. И. Минина¹, Л. А. Гордеева¹, С. А. Мун^{1*},
А. В. Рыжкова¹, А. А. Глушков², А. И. Рогозин¹, В. А. Луценко³,
Н. Е. Вержбицкая³, И. А. Вафин⁴

*E-mail: stellamun@yandex.ru

¹ФГБНУ Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН, Институт экологии человека, Кемерово, Россия;

²ФГАОУ ВО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Институт медицины и психологии, Новосибирск, Россия;

³ГБУЗ КО Областной клинический онкологический диспансер, Кемерово, Россия;

⁴ГКУЗ КО Кемеровский областной центр крови, Кемерово, Россия

Поступила: 27.02.2019. Принята: 25.08.2019

Исследовали предполагаемые взаимосвязи антител, специфичных к низкомолекулярным ксе-но- и эндобиотикам, с генетическими полиморфизмами ферментов репарации ДНК у больных раком молочной железы и здоровых женщин в постменопаузе. Материалом для исследования послужили образцы геномной ДНК и сыворотки крови 559 женщин (344 больных раком молочной железы (РМЖ) и 215 условно здоровых). Исследование антител (IgA, IgG) к бензо[а]пирену (Вр), эстрадиолу (Еs) и прогестерону (Рg) выполняли с помощью неконкурентного иммуноферментного анализа. Исследование генетических полиморфизмов ферментов репарации ДНК (*XPD/ERCC2* (*rs13181*), *ADPRT/PARP1* (*rs1136410*), *hOGG1* (*rs1052133*), *XRCC1* (*rs25489*)) выполняли с помощью аллель-специфической ПЦР. Не было обнаружено существенных различий в частотах вариантов изученных генов ферментов репарации ДНК между сравниваемыми группами. У здоровых женщин не выявили искомым ассоциаций между иммунологическими и генетическими параметрами. Установлено, что высокие уровни IgG АТ к Вр, Es и Рg у больных РМЖ ассоциированы с С аллелем гена *ADPRT/PARP1* ($p=0,02$; $p=0,003$; $p=0,006$ соответственно). Не выявлены ассоциации исследуемых АТ с другими полиморфными вариантами генов репарации ДНК (*XPD* (*ERCC2*), *hOGG1*, *XRCC1*) у больных РМЖ. Таким образом, подтвердили предположение о том, что иммуноспецифические реакции на Вр, Es и Рg при РМЖ могут быть детерминированы генами ферментов репарации ДНК.

Ключевые слова: антитела, бензо[а]пирен, эстрадиол, прогестерон, полиморфизмы генов ферментов репарации ДНК, рак молочной железы

DOI: 10.31857/S102872210007038-6

Адрес: 650065, г. Кемерово, пр-т Ленинградский, 10, ФИЦ УУХ СО РАН ИЭЧ, Мун Стелла Андреевна.
Тел. 8(3842) 57–50–79.

E-mail: stellamun@yandex.ru

Авторы:

Поленок Е. Г., к.фарм.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммунохимии Института экологии человека ФИЦ УУХ СО РАН, Кемерово, Россия;

Минина В. И., д.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории цитогенетики Института экологии человека ФИЦ УУХ СО РАН, Кемерово, Россия;

Гордеева Л. А., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммуногенетики Института экологии человека ФИЦ УУХ СО РАН, Кемерово, Россия;

Мун С. А., к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории иммуногенетики Института экологии человека ФИЦ УУХ СО РАН, Кемерово, Россия;

Рыжкова А. В., ведущий инженер-технолог лаборатории цитогенетики Института экологии человека ФИЦ УУХ СО РАН, Кемерово, Россия;

Глушков А. А., студент Института медицины и психологии, Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия;

Рогозин А. И., аспирант Института экологии человека ФИЦ УУХ СО РАН, Кемерово, Россия;

Луценко В. А., главный врач Областного клинического онкологического диспансера, Кемерово, Россия;

Вержбицкая Н. Е., к.м.н., заведующая патолого-анатомическим отделением в Областном клиническом онкологическом диспансере, Кемерово, Россия;

Вафин И. А., главный врач Кемеровского областного центра крови, Кемерово, Россия.

ВВЕДЕНИЕ

Образование ДНК-аддуктов под воздействием канцерогенов окружающей среды и эндогенных стероидов является триггером канцерогенеза молочной железы. ДНК-аддукты с полициклическими ароматическими углеводородами были обнаружены в нормальной и раковой ткани молочной железы [1, 2], в эпителиальных клетках, выделенных из грудного молока женщин [3], в клетках периферической крови [4, 5]. Эстрогеновые аддукты с ДНК были обнаружены в ткани молочной железы и в сыворотке крови у женщин с высоким риском развития рака молочной железы (РМЖ) и у больных РМЖ [6, 7].

Химические канцерогены и стероидные гормоны, конъюгированные с макромолекулами, могут вызывать синтез специфических антител (АТ). АТ против бензо[а]пирена (Вр), эстрадиола (Еs) и прогестерона (Рg) после иммунизации животных этими соединениями, конъюгированными с макромолекулярными носителями, модулировали их концентрацию в крови и в тканях-мишенях, а также их биологические эффекты [8–13].

Ранее предположили, что индивидуальные иммунологические реакции на химические канцерогены и стероидные гормоны могут быть связаны с полиморфизмом ферментов, контролирующих различные механизмы репарации ДНК, так как накопление аддуктов зависит от активности этих ферментов [14].

Считается, что большинство повреждений ДНК удаляется по пути эксцизионной репарации оснований и эксцизионной репарации нуклеотидов (Base excision repair – BER; Nucleotide excision repair – NER). Особую роль в указанных процессах играют гены: *hOGG1* (*rs1052133*), *ADPRT/PARP1* (*rs1136410*), *XRCC1* (*rs25489*), *XPД/ERCC2* (*rs13181*). В ряде исследований выявлялись ассоциации между полиморфными вариантами генов *hOGG1* (*rs1052133*), *ADPRT/PARP1* (*rs1136410*), *XRCC1* (*rs25489*), *XPД/ERCC2* (*rs13181*) и риском РМЖ [15–18]. Между тем ассоциации между иммунными реакциями

на химические канцерогены и стероидные гормоны и активностью ферментов репарации при канцерогенезе оставались не исследованными.

Цель настоящего исследования – выявить предполагаемые ассоциации АТ, специфичных к Вр, Еs и Рg с полиморфизмом генов *XPД/ERCC2* (*rs13181*), *ADPRT/PARP1* (*rs1136410*), *hOGG1* (*rs1052133*), *XRCC1* (*rs25489*) у больных РМЖ в постменопаузе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами было обследовано 559 женщин в постменопаузе. Из них – 344 с диагнозом инвазивная карцинома молочной железы, которые поступили на лечение в Областной клинический онкологический диспансер г. Кемерово. Диагноз РМЖ в каждом случае был подтвержден гистологически. Средний возраст больных РМЖ составил $63,6 \pm 8,6$ года. В группу сравнения были включены 215 женщин без патологии молочной железы, проживающих на территории Кемеровской области (средний возраст – $57,9 \pm 6,4$ лет). Забор периферической крови проводился с информированного согласия участников исследования, в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации (2000 г.) и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003 г. Образцы сыворотки крови обследуемых забирались в аликвоты и хранились при -70°C .

Исследование АТ классов А и G к Вр, Еs и Рg проводили с помощью неконкурентного иммуноферментного анализа в собственной модификации [19]. В качестве антигена на полистирольные иммунологические планшеты были иммобилизованы конъюгаты Вр, Еs и Рg с бычьим сывороточным альбумином (BSA). Конъюгат Вр-BSA был получен согласно ранее описанной методике [19]. Конъюгат Еs-BSA был синтезирован путем присоединения BSA к эстрадиолхинонам, полученным окислением Еs солью Фреми. Конъюгат Рg-BSA был получен путем конъюгации гемиглутарата 21-гидроксипрогестерона и BSA карбодииимидным способом. Связавшиеся АТ выявляли с помощью козьих АТ против IgA(G) человека, меченных пероксидазой хрена (Novex, США) в разведении 1:10000. Регистрацию адсорбированных на планшете АТ проводили с помощью субстратного буфера, содержащего тетраметилбензидин (ТМВ, США), на фотометре (Униплан, Россия) при длине волны 450 нм. Уровень АТ к гапте-

нам выражали в относительных единицах и вычисляли по формуле:

$$\text{IgA(G)-X} = (\text{OD}_{\text{X-BSA}} - \text{OD}_{\text{BSA}}) / \text{OD}_{\text{BSA}}$$

где X=Вр, Es, Pg; $\text{OD}_{\text{X-BSA}}$ – связывание АТ с конъюгатом гаптен-BSA, OD_{BSA} – фоновое связывание АТ с BSA. Величина уровня IgA(G)-X показывала во сколько раз связывание с канцерогеном превышает связывание с белком-носителем.

Типирование полиморфных вариантов генов *XRCC1* (rs25489), *hOGG1* (rs1052133), *ADPRT/PARP1* (rs1136410), *XPD/ERCC2* (rs13181) проводили методом аллель-специфической ПЦР с использованием коммерческих наборов (НПФ «Литех», г. Москва). Характеристика локусов и праймеров, использованных для анализа, приведена в табл. 1. ПЦР проводили на амплификаторах «Терцик» («ДНК-Технология», Россия). Амплифицированные фрагменты ДНК разделяли при помощи электрофореза в горизонтальном 3% агарозном геле. После чего гель окрашивали раствором бромистого этидия и анализировали в проходящем ультрафиолетовом свете на трансиллюминаторе Gel Doc (Bio-Rad, США).

Распределение частот генотипов у женщин исследуемых групп соответствовало ожидаемым, согласно равновесию Харди-Вайнберга ($p > 0,05$).

Статистический анализ полученных результатов проводился с помощью пакета статистических программ Statistica 8.0, (StatSoft Inc., USA), онлайн калькуляторов http://gen-exp.ru/calculator_or.php, <https://www.snpstats.net/start.htm>. Соответствие частот генотипов изучаемых генов равновесию Харди-Вайнберга (HWE) оценивали с помощью критерия χ^2 Пирсона. Нулевую гипотезу отвергали при $p < 0,05$. Ненормальный характер распределения количественных показателей определяли с помощью критерия

Шапиро-Уилка и в дальнейшем статистически значимые различия между группами выявляли с помощью непараметрического критерия χ^2 с поправкой Йейтса (Yates) на непрерывность вариации. За критический уровень значимости принималось значение $p < 0,05$. Силу ассоциации АТ и генотипов у здоровых женщин и больных РМЖ оценивали с помощью величины отношения шансов (odds ratio, OR) с доверительным интервалом (CI) при 95% уровне значимости. В качестве базовой модели исследовали аддитивную модель наследования признака.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ассоциации полиморфизма генов эксцизионной репарации ДНК *XPD/ERCC2*, *ADPRT/PARP1*, *hOGG1* и *XRCC1* с раком молочной железы

Распределение частот генотипов и аллелей в изученных группах женщин соответствовали данным, полученным ранее у европеоидов (международный проект 1000 Genomes).

Не было выявлено различий между сравниваемыми группами больных и здоровых по частоте встречаемости (%) изученных вариантов генов *XPD/ERCC2*, *ADPRT/PARP1*, *hOGG1* и *XRCC1* (табл. 2).

В ряде работ найдены ассоциации между изученными вариантами генов и риском РМЖ [15–18]. Все белки, кодируемые этими генами, участвуют в восстановлении повреждений ДНК, индуцированных действием химических канцерогенов и половых стероидов, а изученные полиморфные варианты непосредственно связаны с изменением активности кодируемых ими ферментов или эффективности их взаимодействий с другими белками, что приводит к уменьшению репаративной способности клетки [20–23]. Поэтому дальнейшие исследования

Таблица 1. Характеристика локусов и праймеров, использованных для анализа методом аллель-специфической ПЦР

Ген	Полиморфный локус/ Ref SNP	Аллели	Праймеры (5'→3')
<i>XPD/ERCC2</i>	2251 T>G rs13181	T, G	F: 5'-tcaaacatcctgtccctact-3' R: 5'-ctgccgattaaaggctgtgga-3'
<i>hOGG1</i>	977 C>G rs1052133	C, G	F: 5'-ggaaggtgcttggggaat-3' R: 5'-actgtcactagtctcaccag-3'
<i>ADPRT/PARP1</i>	2285 T>C rs1136410	T, C	F: 5'-ctgctgcctatacagtcacttt-3' R: 5'-gtggccatcacattcgtcagat-3'
<i>XRCC1</i>	839 G>A rs25489	G, A	F: 5'-tggggcctggattgctgggtctg-3' R: 5'-cagcaccactaccacacctgaagg-3'

Таблица 2. Распределение полиморфных вариантов генов ферментов репарации ДНК (*XPD/ERCC2*, *ADPRT/PARP1*, *hOGG1*, *XRCC1*) в исследуемых группах женщин

Гены	Генотипы/ аллели	Больные РМЖ N=344	Здоровые женщины N=215	χ^2 (p-value)
<i>XPD/ERCC2</i> 2251 T>G Lys751Gln (rs13181)	TT	219 (63,6)	115(53,4)	5,75 (0,06)
	TG	99 (28,7)	83 (38,6)	
	GG	26 (7,7)	17 (7,9)	3,74 (0,05)
	T/G	537(78,1)/151(21,9)	313(72,8)/117(27,2)	
<i>ADPRT/ PARP1</i> 2285 T>C Val726Gln (rs1136410)	TT	252 (73,2)	142 (66,0)	4,11 (0,13)
	TC	79 (22,9)	67 (31,1)	
	CC	13 (3,9)	6 (2,8)	1,64 (0,19)
	T/C	583(84,7)/105(15,3)	351(81,6)/79(18,4)	
<i>hOGG1</i> 977 C>G Ser326Cys (rs1052133)	CC	205 (59,5)	142 (66,0)	2,17 (0,34)
	CG	124 (36,1)	64 (29,8)	
	GG	15 (4,4)	9 (4,2)	1,55 (0,21)
	C/G	534(77,6)/154(22,4)	348(80,9)/82(19,1)	
<i>XRCC1</i> 839 G>A Arg280His (rs25489)	GG	305 (88,6)	186(86,5)	2,0 (0,37)
	GA	36 (10,4)	23 (10,7)	
	AA	3 (1,0)	6 (2,8)	1,41 (0,24)
	G/A	646(93,9)/42(6,1)	395(91,9)/35(8,1)	

*Yates chi-square

взаимодействия всей генной сети могут помочь выявить предполагаемые ассоциации.

Ассоциации антител против бензо[а]пирена, эстрадиола и прогестерона с полиморфизмом генов ферментов репарации ДНК (XPD/ERCC2, ADPRT/PARP1, hOGG1 и XRCC1) у здоровых женщин и больных раком молочной железы

Не было выявлено каких-либо ассоциаций между изученными АТ и полиморфными вариантами генов ферментов репарации ДНК *XPD/ERCC2*, *ADPRT/PARP1*, *hOGG1* и *XRCC1* у здоровых женщин (данные не приведены).

У больных РМЖ выявлена взаимосвязь уровнем IgG-Вр, IgG-Ес, IgG-Рг с генетическим полиморфизмом *ADPRT/PARP1* (rs1136410). Данные представлены в табл. 3.

Распределение высоких и низких уровней IgG-Вр, IgG-Ес и IgG-Рг (меньше или больше медианы, Ме) статистически значимо зависело от генотипа *ADPRT/PARP1*: соответственно $p=0,009$; $p=0,005$; $p=0,02$.

У больных РМЖ носителей С аллеля гена *ADPRT/PARP1* чаще встречались высокие уровни IgG-Вр (18,0% против 12,0%, $p=0,02$), IgG-Ес

(19,0% против 11,0%, $p=0,003$) и IgG-Рг (15,0% против 11,0%, $p=0,006$).

Ген *ADPRT* (adenosine diphosphate ribosyl transferase) кодирует ассоциированный с хроматином фермент поли-АДФ-рибозил-полимеразу (*PARP1*), которая модифицирует различные ядерные белки и участвует в репарации ДНК и ремоделировании хроматина за счет поли-АДФ-рибозилирования гистонов. В присутствии поврежденной ДНК *PARP1* превращает остатки НАД в поли-АДФ-рибозу и вызывает сшивку белков хроматина через поли-АДФ-рибозильные мостики. Подавление активности *PARP-1* специфичными ингибиторами (например, олапариб, велипариб, инипариб и др.) ведет к накоплению повреждений ДНК и апоптозу клеток, что активно используется при лечении опухолей. Несинонимичный полиморфизм 2285 Т >С (rs1136410), приводящий к аминокислотной замене Val762Ala, ассоциирован с уменьшением его способности связывания с *XRCC1* и другим протеинами, со сниженной функциональной активностью фермента [24]. Очевидно, нарушение репарации ДНК в этом случае может приводить к избыточному накоплению аддуктов ДНК с ме-

Таблица 3. Количество случаев (n) и частота встречаемости (%) высоких (>Me) и низких (≤Me) уровней IgG антител против бензо[а]пирена, эстрадиола и прогестерона (IgG-Bp, IgG-Es, IgG-Pg) у больных раком молочной железы в зависимости от полиморфных вариантов гена *ADPRT/PARP1* (*rs1136410*)

Ген	Генотипы/ аллели	Антитела		χ^2 (p), OR (95%CI)	
		IgG-Bp≤6,5 n (%)	IgG-Bp>6,5 n (%)		
<i>ADPRT/ PARP1</i> 2285 T>C Val726Gln (<i>rs1136410</i>)	ТТ	135(76,7)	117 (69,6)	9,4 (0,009)	
	ТС	40 (22,7)	40 (23,8)		
	СС	1 (0,6)	11 (6,5)		
	Т/С	310 (88,0)/42 (12,0)	274 (82,0)/62 (18,0)		
					5,2 (0,02) 1,6 (1,1–2,4)
			IgG-Es≤6,0 n (%)	IgG-Es>6,0 n (%)	10,5 (0,005)
	ТТ	135 (78,5)	117 (68,0)		
	ТС	36 (20,6)	44 (25,6)		
	СС	1 (0,6)	11 (6,4)		
	Т/С	306 (89,0)/38 (11,0)	278 (81,0)/66 (19,0)		8,9 (0,003) 1,8 (1,2–2,8)
			IgG-Pg≤3,8 n (%)	IgG-Pg>3,8 n (%)	8,2 (0,02)
	ТТ	136 (78,6)	116 (67,8)		
ТС	35 (20,2)	45 (26,3)			
СС	2 (1,2)	10 (5,8)			
Т/С	307 (89,0)/39 (11,0)	277 (81,0)/65 (15,0)		7,3 (0,006) 1,8 (1,2–2,7)	

таболитами Вр и стероидных гормонов и повышению вероятности образования специфических АТ к соответствующим гаптенам.

Ассоциации исследуемых АТ с другими полиморфными вариантами генов репарации ДНК (*XPD/ERCC2*, *hOGG1*, *XRCC1*) у больных РМЖ не выявлены, не исключено, что это связано с недостаточным количеством наблюдений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что высокие уровни IgG АТ к Вр, Es и Pg у больных РМЖ ассоциированы с С аллелем гена *ADPRT/PARP1* (*rs1136410*). Таким образом, получено первое подтверждение предположения о том, что специфические иммунные реакции на химические канцерогены и стероидные гормоны могут быть детерминированы генами ферментов репарации ДНК у больных РМЖ.

Представляется перспективным продолжение исследований искомых взаимосвязей на более представительных выборках здоровых женщин и больных РМЖ.

Работа выполнена в рамках проекта VI.59.1.1. Программы фундаментальных научных исследований СО РАН (гос.задание № 0352-2018-0018).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Rundle A., Tang D., Hibshoosh H., Estabrook A., Schnabel F., Cao W., Grumet S., Perera F.P. The relationship between genetic damage from polycyclic aromatic hydrocarbons in breast tissue and breast cancer. *Carcinogenesis* 2000, 21(7), 1281–1289. doi: 10.1093/carcin/21.5.281
2. Santella R. M., Gammon M. D., Zhang Y. J., Motykievicz G., Young T. L., Hayes S. C., Terry M. B., Schoenberg J. B., Brinton L. A., Bose S., Teitelbaum S. L., Hibshoosh H. Immunohistochemical analysis of polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts in breast tumor tissue. *Cancer Lett.* 2000, 154(2), 143–149. doi:10.1016/S0304-3835(00)00367-0
3. Ambrosone C. B., Abrams S. M., Gorlewska-Roberts K., Kadlubar F. F. Hair dye use, meat intake, and tobacco exposure and presence of carcinogen-DNA adducts in exfoliated breast ductal epithelial cells. *Arch. Biochem. Biophys.* 2007, 464(2), 169–175. doi: 10.1016/j.abb.2007.05.018
4. Gammon M. D., Sagiv S. K., Eng S. M., Shantakuma rS., Gaudet M. M., Teitelbaum S. L., Britto nJ. A., Terry M. B., Wang L. W., Wang Q., Stellman S. D., Beyea J., Hatch M., Kabat G. C., Wolff M. S., Levin B., Neugut A. I., Santella R. M. Polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts and breast cancer: a pooled analysis. *Arch. Environ. Health.* 2004, 59(12), 640–649. doi: 10.1080/00039890409602948

5. Sagiv S. K., Gaudet M. M., Eng S. M., Abrahamson P. E., Shantakumar S., Teitelbaum S. L., Bell P., Thomas J. A., Neugut A. I., Santella R. M., Gammon M. D. Polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts and survival among women with breast cancer. *Environ. Res.* 2009, 109(3), 287–291. doi: 10.1016/j.envres.2008.11.005
6. Rogan E. G., Badawi A. F., Devanesan P. D., Meza J. L., Edney J. A., West W. W., Higginbotham S. M., Cavalieri E. L. Relative imbalances in estrogen metabolism and conjugation in breast tissue of women with carcinoma: potential biomarkers of susceptibility to cancer. *Carcinogenesis* 2003, 24(4), 697–702. doi: 10.1093/carcin/bgg004
7. Pruthi S., Yang L., Sandhu N. P., Ingle J. N., Beseler C. L., Suman V. J., Cavalieri E. L., Rogan E. G. Evaluation of serum estrogen-DNA adducts as potential biomarkers for breast cancer risk. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2012, 132(1–2), 73–79. doi: 10.1016/j.jsbmb.2012.02.002
8. Grova N., Prodhomme E. J., Schellenberger M. T., Farinelle S., Muller C. P. Modulation of carcinogen bioavailability by immunisation with benzo[a]pyrene – conjugate vaccines. *Vaccine* 2009, 27(31), 4142–4151. doi: 10.1016/j.vaccine.2009.04.052
9. Černohorská H., Klimešová S., Lepša L., Jinoch P., Milcová A., Schmuzerová J., Topinka J., Lábaj J. Influence of immunization with non-genotoxic PAH-KLH conjugates on the resistance of organisms exposed to benzo[a]pyrene. *Mut. Res.* 2012, 742(1–2), 2–10. doi: 10.1016/j.mrgentox.2011.10.016
10. Sundaram K., Tsong Y. Y., Hood W., Brinson A. Effect of immunization with estrone-protein conjugate in rhesus monkeys. *Endocrinology* 1973, 93(4), 843–847. doi: 10.1210/endo-93-4-843
11. Schwartz U., Dyrenfurth I., Khalaf S., Vande Wiele R. L., Ferin M. A comparison of the effects of active immunization of female rhesus monkeys to estradiol-17 or progesterone-20-protein conjugates. *J. Steroid Biochem.* 1975, 6(3–4), 541–545. doi: 10.1016/0022-4731(75)90185-5
12. Hillier S. G., Groom G. V., Boyns A. R., Cameron E. H. Effects of active immunisation against steroids upon circulating hormone concentrations. *J. Steroid Biochem.* 1975, 6(3–4), 529–535. doi: 10.1016/0022-4731(75)90183-1
13. Caldwell B. V., Tillson S. A., Esber H., Thorneycroft I. H. Survival of tumors after immunization against oestrogens. *Nature* 1971, 231(5298), 118–119. doi: 10.1038/231118a0
14. Глушков А. Н. Клиническая иммунохимия канцерогенеза: новые задачи и перспективы. *Российский иммунологический журнал* 2013, 7(16), 1, 27–34. [Glushkov A. N. The immunochemistry on carcinogenesis: the new tasks and perspectives. *Rus. J. Immunol.* 2013, 7(16), 1, 27–34]
15. Alanazi M., Pathan A. A. K., Arifeen Z., Shaik J. P., Alabdulkarim H. A., Semlali A., Bazzi M. D., Parine N. R. Association between PARP-1 V762A polymorphism and breast cancersusceptibility in Saudi population. *PLoS One* 2014, 9(3), e92360. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3877358>
16. Smolarz B., Bryś M., Forma E., Zadrożny M., Bienkiewicz J., Romanowicz H. *Pathol. Oncol. Res.* 2017. doi: 10.1007/s12253-017-0370-8
17. Moghaddam A. S., Nazarzadeh M., Bidel Z., Karamatinia A., Darvish H., Jarrahi A. M. hOGG1 gene polymorphism and breast cancer risk: A systematic review and meta-analysis study. *Breast J.* 2018, 24(1), 70–73. doi: 10.1111/tbj.12842
18. Loizidou M. A., Michael T., Neuhausen S. L., Newbold R. F., Marcou Y., Kakouri E., Daniel M., Papadopoulos P., Malas S., Kyriacou K., Hadjisavvas A. Genetic polymorphisms in the DNA repair genes XRCC1, XRCC2 and XRCC3 and risk of breast cancer in Cyprus. *Breast Cancer Res. Treat.* 2008, 112(3), 575–579. doi: 10.1007/s10549-007-9881-4
19. Глушков А. Н., Поленок Е. Г., Аносова Т. П., Савченко Я. А., Баканова М. Л., Минина В. И., Мун С. А., Ларин С. А., Костяно М. В. Сывороточные антитела к бензо[а]пирену и хромосомные aberrации в лимфоцитах периферической крови у рабочих углеперерабатывающего предприятия. *Российский иммунологический журнал* 2011, 5(14), 1, 39–44. [Glushkov A. N., Polenok E. G., Anosova T. P., Savchenko Ya. A., Bakanova M. L., Minina V. I., Mun S. A., Larin S. A., Kost'anko M. V. Serum antibodies to benzo[a]pyrene and chromosomal aberrations in lymphocytes peripheral blood at the workers of coal processing enterprise. *Rus. J. Immunol.* 2011, 5(14), 1, 39–44].
20. Benhamou S., Sarasin A. ERCC2/XPD polymorphisms and lung cancer. *Am. J. Epidemiol.* 2005, 161, 1–14. <http://paperity.org/p/58048097/ercc2-xpd-gene-polymorphisms-and-lung-cancer-a-huge-review>
21. Wang X. G., Wang Z. Q., Tong W. M., Shen Y. PARP1 Val762Ala polymorphism reduces enzymatic activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2007, 354, 122–126. doi: 10.1016/j.bbrc.2006.12.162
22. Simonelli V., Camerini S., Mazzei F., Van Loon B., Alione A., Errico M. D., Barone F., Minoprio A., Ricceri F., Guarrera S., Russo A., Dalhus B., Crescenzi M., Hubscher U., Bjoras M., Matullo G., Dogliotti E. Genotype-phenotype analysis of S326C OGG1 polymorphism: a risk factor for oxidative pathologies. *Free Radic. Biol. Med.* 2013, 63, 401–409. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.05.031
23. Thompson L. H., West M. G. XRCC1 keeps DNA from getting stranded. *Mutat. Res.* 2000, 459, 1–18. doi: 10.1016/S0921-8777(99)00058-0
24. Lockett K. L., Hall M. C., Xu J., Zheng S. L., Berwick M., Chuang S. C., Clark P. E., Cramer S. D., Lohman K., Hu J. J. The ADPRT V762A genetic variant contributes to prostate cancer susceptibility and deficient enzyme function. *Cancer Res.* 2004, 64(17):6344–6348. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-04-0338

ASSOCIATIONS OF THE SPECIFIC IMMUNE REACTIONS
ON THE CHEMICAL CARCINOGENS AND STEROID HORMONES
WITH THE GENE POLYMORPHISMS OF DNA-REPAIR ENZYMES
IN BREAST CANCER PATIENTS

© 2019 E. G. Polenok¹, V. I. Minina¹, L. A. Gordeeva¹, S. A. Mun^{1*},
A. V. Ryzhkova¹, A. A. Glushkov², A. I. Rogozin¹, V. A. Lutsenko³,
N. E. Verzhbitskaya³, I. A. Vafin⁴

*E-mail: stellamun@yandex.ru

¹Federal Research Center of Coal and Coal chemistry SB RAS, Institute of Human Ecology,
Kemerovo, Russia;

²Novosibirsk State University, Institute of Medicine and Psychology, Novosibirsk, Russia;

³Regional Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russia;

⁴Regional Center of Blood, Kemerovo, Russia

Received: 27.02.2019. Accepted: 25.08.2019

The supposed interrelations of antibodies specific to low-weight xeno- and endobiotics with DNA-repair genes polymorphisms were studied in postmenopausal healthy women (HW) and breast cancer patients (BCP). Enzyme-linked immunoassay was used for IgA and IgG to benzo[a]pyrene, estradiol and progesterone detection in 215 HW and 344 BCP. Gene polymorphisms of *XPD/ERCC2 (rs13181)*, *ADPRT/PARP1 (rs1136410)*, *HOGG1 (rs1052133)*, *XRCC1 (rs25489)* were analyzed by allele-specific PCR. No associations of studied gene polymorphisms with breast cancer were revealed, as well as interrelations between immunological and genetic parameters in HW. It was detected that levels of IgG specific to benzo[a]pyrene, estradiol and progesterone were associated with the C allele of *ADPRT/PARP1* ($p=0.02$; $p=0.003$; $p=0.006$ accordingly). Therefore, it was confirmed that genes of DNA-repair enzymes could determine formation of antibodies specific to the chemical carcinogens and endogenous steroids.

Key words: antibodies, benzo[a]pyrene, estradiol, progesterone, gene polymorphisms, DNA-repair enzymes, breast cancer

Authors:

Polenok E. G., PhD (Candidate of Pharmacy), Leading Researcher of Immunochemistry Laboratory, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal chemistry SB RAS, Kemerovo, Russia;

Minina V. I., MD, Leading Researcher of Cytogenetics Laboratory, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal chemistry SB RAS, Kemerovo, Russia;

Gordeeva L. A., PhD (Candidate of Biology), Leading Researcher of Immunogenetics Laboratory, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal chemistry SB RAS, Kemerovo, Russia;

Mun S. A., ✉ PhD (Candidate of Medicine), Senior Researcher Fellow of Immunogenetics Laboratory, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal chemistry SB RAS, Kemerovo, Russia. **E-mail:** stellamun@yandex.ru;

Ryzhkova A. V., Leading Engineer-technologist of Cytogenetics Laboratory, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal chemistry SB RAS, Kemerovo, Russia;

Glushkov A. A., Student of the Institute of Medicine and Psychology, Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia;

Rogozin A. I., Postgraduate of Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal chemistry SB RAS, Kemerovo, Russia;

Lutsenko V. A., Main Physician of Regional Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russia;

Verzhbitskaya N. E., PhD (Candidate of Medicine), Chief of Path-anatomy Department, Regional Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russia;

Vafin I. A., Main Physician of Regional Center of Blood, Kemerovo, Russia.