

ИНДИВИДУАЛЬНЫЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ФЕНОТИП И РИСК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ЖЕНЩИН В ПОСТМЕНОПАУЗЕ

© 2019 г. А. Н. Глушков^{1*}, Е. Г. Поленок¹, С. А. Мун¹, Л. А. Гордеева¹,
М. В. Костянко², А. В. Антонов³, Н. Е. Вержбицкая³, И. А. Вафин⁴

*E-mail: ihe@list.ru

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

²ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет»,
Институт фундаментальных наук, Кемерово, Россия;

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

⁴Кемеровский областной центр крови, Кемерово, Россия

Поступила: 16.10.2018. Принята: 15.01.2019

Анализ IgA, специфичных к бензо[а]пирену (Bp), эстрадиолу (Es) и прогестерону (Pg), в сыворотке крови 400 здоровых женщин и 1284 больных раком молочной железы (РМЖ) позволил выявить следующие иммунологические фенотипы: «протективный», ассоциированный с минимальным риском РМЖ (OR=0,2–0,6), при котором индивидуальный уровень IgA-Pg превосходит уровни IgA-Bp и IgA-Es; «проканцерогенный» с максимальным риском РМЖ (OR=2,1–6,2), при котором уровни IgA-Bp и IgA-Es превосходят уровень IgA-Pg; и два «компенсаторных» (OR=0,7–1,2) при которых уровень IgA-Pg превосходит уровень IgA-Bp или IgA-Es. Наличие того или иного иммунофенотипа не зависело от возраста и курения. Выявлены различия во взаимосвязях уровней IgA-Bp с IgA-Es и IgA-Pg при различных иммунологических фенотипах. Результаты могут быть полезными при разработке и применении антиканцерогенных вакцин для иммунопрофилактики рака.

Ключевые слова: рак молочной железы, антитела, бензо[а]пирен, эстрадиол, прогестерон

DOI: 10.31857/S102872210005019-5

Адрес: 650065, г. Кемерово, пр-т Ленинградский, 10, Россия, ФИЦ УУХ СО РАН ИЭЧ, Мун Стелла Андреевна. Тел.: + 8(3842)575079.

E-mail: stellamun@yandex.ru

Авторы:

Глушков А. Н., д.м.н., профессор, главный научный сотрудник, Институт экологии человека, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН», Кемерово, Россия;

Поленок Е. Г., к.фарм.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммунохимии, Институт экологии человека, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН», Кемерово, Россия;

Мун С. А., к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммуногенетики, Институт экологии человека, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН», Кемерово, Россия;

Гордеева Л. А., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммуногенетики, Институт экологии человека, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН», Кемерово, Россия;

Костянко М. В., ведущий инженер кафедры органической химии, Институт фундаментальных наук, ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», Кемерово, Россия;

Антонов А. В., заместитель главного врача по хирургии, ГБУЗ КО «Областной клинический онкологический диспансер», Кемерово, Россия;

Вержбицкая Н. Е., к.м.н., заведующая патологоанатомическим отделением, ГБУЗ КО «Областной клинический онкологический диспансер», Кемерово, Россия;

Вафин И. А., главный врач, ГКУЗ КО «Кемеровский областной центр крови», Кемерово, Россия

ВВЕДЕНИЕ

Рак молочной железы (РМЖ) – наиболее распространенное онкологическое заболевание у женщин в России и мире [1, 2]. Разработка новых методов определения индивидуального риска возникновения РМЖ и средств его профилактики, основанная на изучении неизвестных

ранее механизмов канцерогенеза молочной железы, остается актуальной задачей современной биологии и медицины.

Ключевым звеном патогенеза РМЖ является образование ДНК-аддуктов с метаболитами полициклических ароматических углеводородов окружающей среды [3, 4] и эндогенных эстрогенов [5, 6]. Указанные низкомолекулярные соединения в комплексе с макромолекулярным носителем могут служить индукторами синтеза специфических антител (АТ), которые, в свою очередь, способны модулировать содержание химических канцерогенов и стероидных гормонов в сыворотке крови и органах-мишенях и их биологические эффекты, как это было показано в экспериментах по иммунизации животных [7–12].

Таким образом, АТ к химическим канцерогенам и стероидным гормонам в сыворотке крови человека представляются не только биологическими маркерами канцерогенеза, но и активными участниками процессов инициации и промоции. Иммуноанализ таких АТ можно использовать для определения индивидуальных онкологических рисков, а в перспективе станет необходимым для оценки эффективности новых средств иммунопрофилактики рака с помощью антиканцерогенных вакцин [13, 14, 15].

Ранее были выявлены ассоциации уровней АТ к бензо[а]пирену (Вр), эстрадиолу (Еs) и прогестерону (Рg) с РМЖ у женщин в постменопаузе [16, 17]. Однако при этом не учитывали влияние возраста и канцерогенного воздействия (курение) на их образование.

Цель настоящей работы – исследовать особенности образования IgA-Вр, IgA-Еs, IgA-Рg у здоровых женщин и больных РМЖ отдельных возрастных групп с учетом фактора курения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами были обследованы 1684 женщины в постменопаузе. В исследуемую группу были включены 1284 женщины с диагнозом инвазивная карцинома молочной железы, которые поступили на лечение в Областной клинический онкологический диспансер г. Кемерово. Диагноз РМЖ в каждом случае был подтвержден морфологически. Медиана возраста женщин в исследуемой группе – 62 года (интерквартильный размах 57–69). Среди них было курящих 105 (8%) и некурящих 1179 (92%). В группу сравнения были включены 400 условно здоровых женщин, проживающих на территории

Кемеровской области, и доноры Кемеровского центра крови, без патологии молочной железы. Медиана возраста женщин в группе сравнения – 57 лет (интерквартильный размах 42–80). Среди них было 45 (11%) курящих и 355 (89%) некурящих.

Забор периферической крови осуществлялся согласно этическим стандартам в соответствии с Хельсинской декларацией 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003 г. Все лица, участвовавшие в исследовании, дали информированное письменное согласие на участие в нем.

Иммуноанализ IgA АТ к Вр, Еs и Рg (IgA-Вр, IgA-Еs, IgA-Рg) проводили с помощью неконкурентного иммуноферментного анализа. В качестве антигенов на полистирольные иммунологические планшеты были иммобилизованы конъюгаты Вр, Еs и Рg с бычьим сывороточным альбумином (BSA). Конъюгат Вр-BSA был синтезирован по методике, описанной в работе [18]. 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 карбодиимидным способом. Иммунологические планшеты сенсibilизировали конъюгатами гаптен-BSA по 100 мкл в лунку в концентрации 2 мкг/мл при комнатной температуре в течение ночи. Для оценки фонового связывания АТ с белком-носителем в отдельные лунки вносили неконъюгированный BSA. Для блокировки свободных мест на пластике во все лунки вносили по 250 мкл блокирующего буфера (натрий-фосфатный буфер PBS, содержащий 0,5% BSA и 0,05% Tween-20) и инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре. Образцы сыворотки крови разводили 1:20 блокирующим буфером и вносили по 100 мкл в лунки планшета в дублях, инкубировали 1 ч при 37 °С на шейкере. Связавшиеся АТ выявляли с помощью козьих АТ против IgA человека, меченных пероксидазой хрена (Novex, США), разведение конъюгата 1:10000. В лунки вносили по 100 мкл меченных АТ и инкубировали 1 ч при 37 °С на шейкере. После каждого этапа инкубации планшеты промывали 4–5 раз PBS, содержащим 0,05% Tween-20. Регистрацию адсорбированных на планшете АТ проводили с помощью субстратного буфера, содержащего тетраметилбензидин (ТМВ, США), на фотометре Униплан (Пикон, Россия) при длине волны

450 нм. Уровни АТ выражали в относительных единицах и вычисляли по формуле:

$$\text{IgA-X} = (\text{ODX-BSA} - \text{ODBSA}) / \text{ODBSA}$$

где X=Вр, Es, Pg; ODX-BSA – связывание АТ с конъюгатом гаптен-BSA, ODBSA – фоновое связывание с BSA.

Статистический анализ полученных результатов проводился с помощью пакета статистических программ Statistica 6.0 (StatSoft Inc., USA). Ненормальный характер распределения количественных показателей определили с помощью критерия Шапиро-Уилка и в дальнейшем статистически значимые различия между группами выявляли с помощью непараметрического критерия χ^2 с поправкой Йейтса на непрерывность вариации. За критический уровень значимости принималось значение $p < 0,05$. Для выявления пороговых значений уровней АТ (cut-off) был проведен ROC-анализ [19]. Ассоциации исследуемых АТ с РМЖ оценивали на

основании величины отношения шансов (odds ratio, OR) с доверительным интервалом (CI) при 95% уровне значимости. Для оценки взаимосвязей между уровнями специфичных АТ использовали ранговую корреляцию по Спирмену.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Индивидуальные иммунологические фенотипы у женщин в постменопаузе

С помощью ROC-анализа рассчитали пороговые значения уровней IgA, специфичных к Вр, Es, Pg, а также индивидуальных соотношений уровней указанных АТ, по которым сравниваемые группы имели наиболее значимые различия (cut-off). В **таблице 1** представлено распределение случаев по числу и частоте встречаемости с низким и высоким значениями уровней АТ и их соотношений в сравниваемых группах без учета возраста и курения.

Таблица 1. Число (n) и частота встречаемости (%) случаев с низким (\leq) и высоким ($>$) уровнями антител к бензо[а]пирену, эстрадиолу и прогестерону и их соотношений в сыворотке крови у здоровых женщин и больных раком молочной железы (РМЖ) в постменопаузе

Антитела, соотношения, комбинации соотношений	Больные РМЖ N=1284	Здоровые женщины N=400	χ^2 , (p)	OR (95%CI)
	n/%	n/%		
1.1. IgA-Вр \leq 3,0 $>$ 3,0	684/53,3 600/46,7	252/63,0 148/37,0	11,3 (0,0008)	0,7 (0,5–0,8) 1,5 (1,2–1,9)
1.2. IgA-Es \leq 3,0 $>$ 3,0	715/55,7 569/44,3	222/55,5 178/44,5	0,0 (0,994)	1,0 (0,8–1,3) 1,0 (0,8–1,2)
1.3. IgA-Pg \leq 3,0 $>$ 3,0	892/69,5 392/30,5	226/56,5 174/43,5	22,42 (<0,0001)	1,8 (1,4–2,2) 0,6 (0,5–0,7)
2.1. IgA-Вр/IgA-Es \leq 1,0 $>$ 1,0	619/48,2 665/51,8	238/59,5 162/40,5	15,11 (0,0001)	0,6 (0,5–0,8) 1,6 (1,3–2,0)
2.2. IgA-Вр/IgA-Pg \leq 1,0 $>$ 1,0	396/30,8 888/69,2	233/58,3 167/41,7	96,75 (<0,0001)	0,3 (0,2–0,4) 3,1 (2,5–3,9)
2.3. IgA-Es/IgA-Pg \leq 1,0 $>$ 1,0	375/29,2 909/70,8	207/51,8 193/48,2	67,55 (<0,0001)	0,4 (0,3–0,5) 2,6 (2,0–3,3)
3.1. IgA-Вр/IgA-Pg \leq 1,0 IgA-Es/IgA-Pg \leq 1,0	241/18,8	163/40,8	79,6 (<0,0001)	0,3 (0,3–0,4)
3.2. IgA-Вр/IgA-Pg $>$ 1,0 IgA-Es/IgA-Pg \leq 1,0	134/10,4	44/11,0	0,1 (0,820)	0,9 (0,7–1,4)
3.3. IgA-Вр/IgA-Pg \leq 1,0 IgA-Es/IgA-Pg $>$ 1,0	155/12,1	70/17,5	7,3 (0,007)	0,6 (0,5–0,9)
3.4. IgA-Вр/IgA-Pg $>$ 1,0 IgA-Es/IgA-Pg $>$ 1,0	754/58,7	123/30,8	94,5 (<0,0001)	3,2 (2,5–4,1)

Таблица 2. Распределение женщин в сравниваемых группах по факторам «возраст» и «курение»

Возраст (лет) Курение (+/–)	Больные РМЖ N=1284	Здоровые женщины N=400	χ^2 , (p)
	n/%	n/%	
1.1. Курение –	1179/91,8	355/88,8	3,2 (0,746)
1.2. Курение +	105/8,2	45/11,2	
2.1. Возраст \leq 59	476/37,1	268/67,0	109,6 (<0,0001)
2.2. Возраст > 59	808/62,9	132/33,0	

Таблица 3. Число (n) и частота встречаемости (%) низких (\leq) и высоких (>) значений соотношений исследуемых антител в зависимости от фактора курения у здоровых женщин и больных раком молочной железы (РМЖ) в постменопаузе

Комбинация соотношений антител	Больные РМЖ N=1284		Здоровые женщины N=400	
	Курение + N=105	Курение – N=1179	Курение + N=45	Курение – N=355
	n/%	n/%	n/%	n/%
1. IgA-Vp/IgA-Pg \leq 1,0 IgA-Es/IgA-Pg \leq 1,0	13/12,4	228/19,3	15/33,6	148/41,7
2. IgA-Vp/IgA-Pg > 1,0 IgA-Es/IgA-Pg \leq 1,0	9/8,6	125/10,6	2/4,4	42/11,8
3. IgA-Vp/IgA-Pg \leq 1,0 IgA-Es/IgA-Pg > 1,0	14/13,3	141/12,0	13/28,9	57/16,1
4. IgA-Vp/IgA-Pg > 1,0 IgA-Es/IgA-Pg > 1,0	69/65,7	685/58,1	15/33,6	108/30,4
χ^2 (p), df=3	3,970 (0,265)		6,534 (0,089)	

Высокие уровни IgA-Vp у больных РМЖ встречались статистически значимо чаще, а IgA-Pg – реже, чем у здоровых женщин (OR=1,5 и OR=0,6, соответственно). По частоте обнаружения высоких и низких значений уровней IgA-Es сравниваемые группы не различались.

Анализ индивидуальных соотношений уровней исследуемых АТ оказался более информативным (позиции 2.1–2.3). Максимальные различия между здоровыми женщинами и больными РМЖ выявлены для соотношений IgA-Vp/IgA-Pg и IgA-Es/IgA-Pg. Когда уровни IgA-Vp и IgA-Es превышали уровни IgA-Pg значения OR, составляли 3,1 и 2,6 соответственно. Если уровни IgA-Pg превышали таковые IgA-Vp и IgA-Es, риск РМЖ снижался до OR=0,3 и OR=0,4.

Однако, это утверждение соответствовало действительности только при определенных индивидуальных комбинациях указанных соотношений. Риск возникновения РМЖ снижался

(OR=0,3) только тогда, когда уровни и IgA-Vp, и IgA-Es одновременно были ниже, чем уровни IgA-Pg (позиция 3.1). Такой индивидуальный иммунологический фенотип обозначили как «протективный». Высокий риск РМЖ (OR=3,2) выявлен только в тех случаях, когда уровни и IgA-Vp, и IgA-Es одновременно были выше, чем уровень IgA-Pg (позиция 3.4). Такой иммунологический фенотип обозначили как «проканцерогенный». Если уровень IgA-Pg был ниже, чем IgA-Vp, но выше, чем IgA-Es (позиция 3.2), значение OR составляло 0,9 (0,7–1,4), т.е. риск РМЖ отсутствовал. Если уровень IgA-Pg был выше, чем IgA-Vp, но ниже, чем IgA-Es (позиция 3.3) значение OR составляло 0,6 (0,5–0,9). В этих случаях проканцерогенное действие IgA-Vp или IgA-Es было компенсировано высокими уровнями IgA-Pg, поэтому такие иммунологические фенотипы обозначены как «компенсаторные» первого типа и второго типа соответственно.

Таблица 4. Число (n) и частота встречаемости (%) комбинаций низких (\leq) и высоких ($>$) значений соотношений исследуемых антител в зависимости от фактора возраста у здоровых женщин и больных раком молочной железы (РМЖ) в постменопаузе

Комбинация соотношений антител	Больные РМЖ N=1284				Здоровые женщины N=400			
	≤ 50	51–60	61–70	> 70	≤ 50	51–60	61–70	> 70
	N=69	N=475	N=484	N=256	N=47	N=243	N=96	N=14
	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%
1. IgA-Bp/IgA-Pg $\leq 1,0$ IgA-Es/IgA-Pg $\leq 1,0$	8/11,6	95/20,0	87/18,0	51/19,9	23/48,9	86/35,4	48/50,0	6/42,9
2. IgA-Bp/IgA-Pg $> 1,0$ IgA-Es/IgA-Pg $\leq 1,0$	10/14,5	44/9,3	52/10,7	28/10,9	3/6,4	31/12,8	8/8,3	2/14,3
3. IgA-Bp/IgA-Pg $\leq 1,0$ IgA-Es/IgA-Pg $> 1,0$	9/13,0	57/12,0	59/12,2	30/11,7	10/21,3	41/16,9	16/16,7	3/21,4
4. IgA-Bp/IgA-Pg $> 1,0$ IgA-Es/IgA-Pg $> 1,0$	42/60,9	279/58,7	286/59,1	147/57,4	11/23,4	85/35,0	24/25,0	3/21,4
χ^2 (p), df=9	4,667 ($>0,05$)				11,133 ($>0,05$)			

Таблица 5. Влияние индивидуальных особенностей образования антител к бензо[а]пирену, эстрадиолу и прогестерону на риски возникновения рака молочной железы у женщин в постменопаузе в различных возрастных подгруппах

Возраст, комбинация соотношений уровней антител	Больные РМЖ	Здоровые женщины	χ^2 (p)	OR (95% CI)
	n/%	n/%		
1. ≤ 59 лет	N=476	N=268		
1.1. IgA-Bp/IgA-Pg $\leq 1,0$ IgA-Es/IgA-Pg $\leq 1,0$	89/18,7	99/36,9	29,26 ($<0,0001$)	0,4 (0,3–0,6)
1.2. IgA-Bp/IgA-Pg $> 1,0$ IgA-Es/IgA-Pg $\leq 1,0$	48/10,1	32/11,9	0,44 (0,508)	0,8 (0,5–1,3)
1.3. IgA-Bp/IgA-Pg $\leq 1,0$ IgA-Es/IgA-Pg $> 1,0$	60/12,6	48/17,9	3,47 (0,062)	0,7 (0,4–1,0)
1.4. IgA-Bp/IgA-Pg $> 1,0$ IgA-Es/IgA-Pg $> 1,0$	279/58,6	89/33,2	43,26 ($<0,0001$)	2,8 (2,1–3,9)
2. > 59 лет	N=808	N=132		
2.1. IgA-Bp/IgA-Pg $\leq 1,0$ IgA-Es/IgA-Pg $\leq 1,0$	152/18,8	64/48,5	54,78 ($<0,0001$)	0,2 (0,2–0,4)
2.2. IgA-Bp/IgA-Pg $> 1,0$ IgA-Es/IgA-Pg $\leq 1,0$	86/10,6	12/9,1	0,15 (0,698)	1,2 (0,6–2,2)
2.3. IgA-Bp/IgA-Pg $\leq 1,0$ IgA-Es/IgA-Pg $> 1,0$	95/11,8	22/16,7	2,08 (0,149)	0,7 (0,4–1,1)
2.4. IgA-Bp/IgA-Pg $> 1,0$ IgA-Es/IgA-Pg $> 1,0$	475/58,8	34/25,8	48,54 ($<0,0001$)	4,1 (2,7–6,2)

Влияние курения и возраста на формирование иммунологических фенотипов у женщин в постменопаузе

Распределение женщин в сравниваемых группах по курению и возрасту представлено в **таблице 2**. Выяснилось, что доля курящих женщин

среди здоровых (11,2%) соответствовала таковой среди больных РМЖ (8,2%, $p>0,05$). В то же время женщин старше 59 лет (cut-off) среди больных РМЖ было больше (62,9%), чем среди здоровых (33,0%, $p<0,0001$). Частота встречаемости каждой из четырех выделенных выше индивидуаль-

ных комбинаций соотношений исследуемых АТ не различалась значимо ($p > 0,05$) между курящими и некурящими женщинами (таб. 3).

Распределение выделенных комбинаций исследуемых АТ по четырем возрастным подгруппам оказалось равновесным ($p > 0,05$), как у здоровых женщин, так и у больных РМЖ (таб. 4).

Расчет рисков РМЖ у женщин моложе и старше 59 лет показал следующее (табл. 5). Минимальные значения OR (0,4–0,2) выявлены при высоких уровнях IgA-Pg, превышающих уровни и IgA-Bp, и IgA-Es (позиции 1.1 и 2.1). Максимальные значения OR (2,8–4,1) – при высоких уровнях IgA-Bp и IgA-Es, превышающих уровни IgA-Pg (позиции 1.4 и 2.4). С учетом 95% CI по указанным значениям OR риски РМЖ были одинаковыми у женщин моложе и старше 59 лет.

По промежуточным позициям различий между сравниваемыми группами не было.

Влияние сывороточных IgA-Bp на образование IgA-Es и IgA-Pg у женщин в постменопаузе

Исследовали зависимость образования IgA-Es и IgA-Pg от содержания IgA-Bp в сыворотке

крови женщин в постменопаузе с различным иммунологическим фенотипом (таб. 6).

Искомые взаимосвязи с высокими коэффициентами корреляции ($r_s = 0,77–0,95$) были выявлены у здоровых женщин и больных РМЖ при любом иммунологическом фенотипе. Однако, возрастание уровней IgA-Es и IgA-Pg при возрастании уровней IgA-Bp было выражено сильнее при протективном фенотипе и компенсаторном второго типа, чем при проканцерогенном фенотипе и при компенсаторном первого типа, о чем свидетельствуют коэффициенты a в уравнениях линейной регрессии.

Очевидно, что применение антиканцерогенных вакцин показано прежде всего у женщин с проканцерогенным иммунологическим фенотипом, ассоциированным с максимальным риском РМЖ. Влияние IgA-Bp на уровни IgA-Es и IgA-Pg у них значительно меньше, чем у женщин с протективным иммунофенотипом и минимальным риском РМЖ, как это видно по уравнениям линейной регрессии. Однако возрастание уровней IgA-Es при возрастании уровней IgA-Bp оказалось более выраженным (ко-

Таблица 6. Зависимость уровней IgA-Es и IgA-Pg от уровней IgA-Bp при различных иммунологических фенотипах у здоровых женщин и больных раком молочной железы (РМЖ) в постменопаузе

Иммунологический фенотип	x	y	Больные РМЖ N=1284		Здоровые женщины N=400	
			r_s (p)	$y = a \cdot x + b$	r_s	$y = a \cdot x + b$
1. Протективный						
IgA-Bp/IgA-Pg $\leq 1,0$	IgA-Bp	IgA-Es	0,86 ($<0,0001$)	$y = 0,93x + 0,22$	0,83 ($<0,0001$)	$y = 1,05x + 0,33$
IgA-Es/IgA-Pg $\leq 1,0$	IgA-Bp	IgA-Pg	0,84 ($<0,0001$)	$y = 1,58x + 0,46$	0,77 ($<0,0001$)	$y = 1,40x + 1,15$
2. Компенсаторный первого типа						
IgA-Bp/IgA-Pg $> 1,0$	IgA-Bp	IgA-Es	0,86 ($<0,0001$)	$y = 0,29x + 0,94$	0,80 ($<0,0001$)	$y = 0,22x + 1,0$
IgA-Es/IgA-Pg $\leq 1,0$	IgA-Bp	IgA-Pg	0,92 ($<0,0001$)	$y = 0,41x + 1,09$	0,88 ($<0,0001$)	$y = 0,28x + 1,33$
3. Компенсаторный второго типа						
IgA-Bp/IgA-Pg $\leq 1,0$	IgA-Bp	IgA-Es	0,90 ($<0,0001$)	$y = 1,39x + 0,64$	0,89 ($<0,0001$)	$y = 1,91x + 0,02$
IgA-Es/IgA-Pg $> 1,0$	IgA-Bp	IgA-Pg	0,95 ($<0,0001$)	$y = 1,12x + 0,31$	0,90 ($<0,0001$)	$y = 1,31x + 0,32$
4. Проканцерогенный						
IgA-Bp/IgA-Pg $> 1,0$	IgA-Bp	IgA-Es	0,78 ($<0,0001$)	$y = 0,71x + 0,86$	0,83 ($<0,0001$)	$y = 0,73x + 0,91$
IgA-Es/IgA-Pg $> 1,0$	IgA-Bp	IgA-Pg	0,77 ($<0,0001$)	$y = 0,45x + 0,34$	0,84 ($<0,0001$)	$y = 0,44x + 0,54$

эффицент $a=0,73$), чем возрастание уровней IgA-Pg ($a=0,44$) у здоровых, $a=0,71$ и $a=0,45$, соответственно у больных РМЖ.

ОБСУЖДЕНИЕ

Впервые введено понятие иммунологического фенотипа в отношении химического канцерогенеза у человека. Выделено 4 основных иммунологических фенотипа:

– протективный, ассоциированный с минимальным канцерогенным риском, при котором взаимно усиливающее действие АТ к Vp и к Es, стимулирующее канцерогенез (иммунологическая интерференция), полностью сбалансировано действием АТ к Pg, угнетающим канцерогенез;

– компенсаторные I и II типов, при которых стимулирующие эффекты АТ к Vp или к Es, частично сбалансированы угнетающим действием АТ к Pg;

– проканцерогенный, ассоциированный с высоким канцерогенным риском, при котором имеет место дисбаланс между выраженным совместным стимулирующим действием АТ к Vp и к Es и слабым угнетающим действием к Pg.

Настоящие результаты подтверждают полученные ранее на меньших по количеству выборках (без учета факторов курения и возраста) [17].

Установлено, что формирование индивидуального иммунологического фенотипа не зависит (или слабо зависит) от интенсивности внешнего канцерогенного воздействия (курения) и от возраста и, очевидно, детерминировано персональным генотипом, определяющим образование АТ, специфичных к низкомолекулярным ксено- и эндобактериям, участвующим в химическом канцерогенезе.

Полученный результат соответствует известным данным об отсутствии влияния курения на содержание ДНК-аддуктов с полициклическими ароматическими углеводородами в нормальной и малигнизированной ткани молочной железы и периферических лейкоцитах [3, 4]. Очевидно, индивидуальный фенотип – это конституционная генетически детерминированная характеристика организма, определяющая баланс между АТ с протективными и проканцерогенными функциями.

Основным свойством вакцин для иммунопрофилактики рака по мнению большинства исследователей [13, 14, 15] должна быть способность индуцировать синтез секреторных, но не сывороточных АТ против химических канцерогенов окружающей среды. В то же время у 37%

здоровых женщин выявлен повышенный уровень IgA-Vp в сыворотке крови, у 41,7% уровень IgA-Vp превышал таковой IgA-Pg (таб. 1). Кроме того, превышение уровней IgA-Vp и IgA-Es над IgA-Pg ассоциировано с высоким риском раком легкого у женщин в постменопаузе [17]. Данные свидетельствуют о большой вероятности стимуляции образования сывороточных IgA-Vp под действием вакцин против Vp с последующим возрастанием риска возникновения РМЖ и рака легкого.

Наряду с этим необходимо учитывать наличие прямых взаимосвязей IgA-Vp с IgA-Es и IgA-Pg [20], которые в свою очередь, оказались взаимосвязанными с содержанием Es и Pg в сыворотке крови больных РМЖ [21].

В настоящем исследовании обнаружили характерные особенности взаимосвязей IgA-Es и IgA-Pg с IgA-Vp при различных иммунологических фенотипах. В частности, при проканцерогенном фенотипе возрастание уровней IgA-Es с повышением IgA-Vp более выражено, чем возрастание IgA-Pg.

Содержание иммунологического фенотипа будет дополняться с учетом участия в его формировании соответствующих антиидиотипических АТ, выявленных ранее у здоровых людей и больных раком [22].

Исследование иммунологических фенотипов целесообразно учитывать в разработке перспективных средств активной иммунопрофилактики рака, в первую очередь, для предупреждения возможных негативных последствий применения антиканцерогенных вакцин.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Злокачественные новообразования в России в 2015 (заболеваемость и смертность) Под ред. Каприна А. Д., Старинского В. В., Петровой Г. В. М: МНИОИ им. П. А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2017, 250. [Malignant neoplasms in Russia in 2015 (morbidity and mortality). Kaprin A. D., Starinsky V. V., Petrova G. V. (eds.), M: Moscow oncology institute of Herzen FMRC MHRF, 2017, 250.]
2. Siegel R. L., Miller K. D., Jemal A. Cancer Statistics, 2017. CA Cancer J Clin. 2017, 67(1), 7–30. doi: 10.3322/caac.21387
3. 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
4. Gammon M. D., Sagiv S. K., Eng S. M., Shantakumar S., Gaudet M. M., Teitelbaum S. L., Britton J. A.,

- Terry M. B., Wang L. W., Wang Q., Stellman S. D., Beyea J., Haich 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. 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
 6. Cavalieri E. L., Rogan E. G. Depurinating estrogen-DNA adducts, generators of cancer initiation: their minimization leads to cancer prevention. *Clinical and Translational Medicine* 2016, 5(12). doi: 10.1186/s40169-016-0088-3
 7. 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
 8. Peck R. M., Peck E. B. Inhibition of chemically induced neoplasia by immunization with an antigenic carcinogen-protein conjugate. *Cancer Res.* 1971, 31, 1550–1554.
 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. 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
 11. Caldwell B. V., Tillson S. A., Esber H., Thorncroft I. H. Survival of tumors after immunization against oestrogens. *Nature* 1971, 231(5298), 118–119. doi: 10.1038/231118a0
 12. 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
 13. Silbart L. K., Rasmussen H. V., Oliver A. R. Immunoprophylactic intervention in chemical toxicity and carcinogenicity. *Vet. Hum. Toxicol.* 1997, 39(1), 37–43.
 14. De Buck S. S., Muller C. P. Immunopropylactic approaches against chemical carcinogenesis. *Vaccine* 2005, 23(17–18), 2403–2406. doi: 10.1016/j.vaccine.2005.01.020
 15. Schellenberger M. T., Farinelle S., Willième S., Muller C. P. Evaluation of adjuvants for a candidate conjugate vaccine against benzo[a]pyrene. *Hum. Vaccin.* 2011, 7(1), 166–173.
 16. Glushkov A., Polenok E., Kostyanko M., Antonov A., Verzhbitskaya N., Vafin I., Ragozhina S. Postmenopausal breast cancer risk in relation to antibodies specific to benzo[a]pyrene, estradiol and progesterone. *Iran J. Cancer Prev.* 2016, 9(2), e4212. doi: 10.17795/ijcp-4212
 17. Глушков А. Н., Поленок Е. Г., Гордеева Л. А., Мун С. А., Костянко М. В., Антонов А. В., Титов В. А., Вержбицкая Н. Е., Вафин И. А. Иммунологический дисбаланс при раке молочной железы и раке легкого у женщин в постменопаузе. *Медицинская иммунология* 2018, 20(6), 139–146. doi: 10.17795/ijcp-4212 [Glushkov A. N., Polenok E. G., Gordeeva L. A., Mun S. A., Kostyanko M. V., Antonov A. V., Titov V. A., Verzhbitskaya N. E., Vafin I. A. Immunological disbalance in breast cancer and lung cancer in postmenopausal women. *Medical immunology* 2018, 20(6), 139–146. doi: 10.17795/ijcp-4212]
 18. Glushkov A. N., Kostjanko M. V., Chernov S. V., Vasilchenko I. L. Synthesis of polycyclic aromatic hydrocarbon-protein conjugates for preparation and immunoassay of antibodies. *Russ J Immunol.* 2002, 7(1), 42–6.
 19. Hajian-Tilaki K. Receiver Operating Characteristic (ROC) Curve Analysis for Medical Diagnostic Test Evaluation. *Caspian J. Intern. Med.* 2013, 4(2), 627–635.
 20. Глушков А. Н., Поленок Е. Г., Костянко М. В., Антонов А. В., Вержбицкая Н. Е., Вафин И. А., Рагожина С. Е. Влияние антител к эстрадиолу и прогестерону на содержание этих гормонов в сыворотке крови у здоровых женщин и больных раком молочной железы. *Российский иммунологический журнал* 2017, 11(20), 1, 26–34. [Glushkov A. N., Polenok E. G., Kostyanko M. V., Antonov A. V., Verzhbitskaya N. E., Vafin I. A., Ragozhina S. E. Effect of antibodies to estradiol and progesterone on the concentrations these hormones in serum of healthy women and breast cancer patients. *Rus. J. Immunol.* 2017. 11(20), 1, 26–34.]
 21. Глушков А. Н., Поленок Е. Г., Костянко М. В., Рогозин А. И., Антонов А. В., Вержбицкая Н. Е. Совместное влияние антител к бензо[а]пирену, эстрадиолу и прогестерону на содержание женских половых гормонов в сыворотке крови у больных раком молочной железы. *Российский иммунологический журнал* 2018, 12(21), 40–45. [Glushkov A. N., Polenok E. G., Kostyanko M. V., Rogozin A. I., Antonov A. V., Verzhbitskaya N. E. Combination effects of antibodies to benzo[a]pyrene, estradiol and progesterone onto concentrations of female sex hormones in blood serum of the breast cancer patients. *Rus. J. Immunol.* 2018. 12(21), 40–45.]
 22. Глушков А. Н., Поленок Е. Г., Костянко М. В., Антонов А. В., Вержбицкая Н. Е., Вафин И. А., Рагожина С. Е. Антитела и анти-антитела к стероидным гормонам и риск рака молочной железы. *Медицинская иммунология* 2017, 19(5), 577–584. doi: 10.15789/1563-0625-2017-5-577-584 [Glushkov A. N., Polenok E. G., Kostyanko M. V., Antonov A. V., Verzhbitskaya N. E., Vafin I. A., Ragozhina S. E. Antibodies and anti-antibodies to steroid hormones and breast cancer risk. *Medical immunology* 2017, 19(5), 577–584. doi: 10.15789/1563-0625-2017-5-577-584]

**PERSONAL IMMUNOLOGICAL PHENOTYPE AND BREAST
CANCER RISK IN POSTMENOPAUSAL WOMEN**

© 2019 A. N. Glushkov^{1*}, E. G. Polenok¹, S. A. Mun¹, L. A. Gordeeva¹,
M. V. Kostyanko², A. V. Antonov³, N. E. Verzhbitskaya³, I. A. Vafin⁴

*E-mail: ihe@list.ru

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

²*Institute of Fundamental Sciences, Kemerovo State University, Kemerovo;*

³*Regional Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russia;*

⁴*Regional Center of Blood, Kemerovo, Russia*

Received: 16.10.2018. **Accepted:** 15.01.2019

The following immunological phenotypes were described using immunoanalysis of blood serum IgA-Bp, IgA-Es and IgA-Pg in 400 healthy women and 1284 breast cancer (BC) patients: “protective” with the minimal BC risk (OR=0.2–0.6) in which personal IgA-Pg level exceeded both IgA-Bp and IgA-Es; “procarcinogenic” with maximal BC risk (OR=2.1–6.2) in which both IgA-Bp and IgA-Es were higher than IgA-Pg; and two “compensatory” (OR=0.7–1.2) in which IgA-Pg levels exceeded IgA-Bp or IgA-Es. Existence of one or the other immunophenotype did not depended from smocking or age. The differences in correlations of IgA-Bp with IgA-Es and IgA-Pg were revealed at these immunophenotypes. The results would be helpful in the creation and clinical application of anticarcinogenic vaccines for cancer immunoprevention.

Key words: breast cancer, antibodies, benzo[a]pyrene, estradiol, progesterone

Authors:

Glushkov A. N., ✉ MD, Professor, Chief Researcher of Immunogenetics Laboratory, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal chemistry SB RAS, Kemerovo, Russia; **E-mail:** ihe@list.ru;

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;

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;

650065, Kemerovo, Leningradsky Avenue, 10, Russia, Federal Research Center of Coal and Coal chemistry SB RAS, phone: 8(3842) 575079; **E-mail:** stellamun@yandex.ru;

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;

Kostyanko M. V., Leading Engineer of the Organic Chemistry Chair, Institute of Fundamental Sciences, Kemerovo State University, Kemerovo;

Antonov A. V., Deputy chief physician for surgery, Regional Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russia;

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

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