

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ И ГОРМОН-СПЕЦИФИЧЕСКИХ АУТОАНТИТЕЛ В РЕГУЛЯЦИИ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ОПУХОЛИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Глушков А. Н.¹,
Поленок Е. Г.¹,
Гордеева Л. А.¹,
Мун С. А.¹,
Студенников А. Е.¹,
Елисейкин А. М.¹,
Костянко М. В.²,
Захаров В. Н.³,
Антонов А. В.³,
Байрамов П. В.³,
Вержбицкая Н. Е.³,
Колпинский Г. И.^{4,5}

¹ ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук», Институт экологии человека, г. Кемерово, Россия.

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

³ ГБУЗ «Кузбасский клинический онкологический диспансер им. М.С. Раппопорта», г. Кемерово, Россия.

⁴ ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет», г. Кемерово, Россия.

⁵ ГАУЗ «Клинический консультативно-диагностический центр им. И.А. Колпинского», г. Кемерово, Россия.

**INTERACTION OF STEROID HORMONES AND HORMONE-SPECIFIC
AUTOANTIBODIES IN THE REGULATION OF TUMOR
PROLIFERATIVE ACTIVITY IN BREAST CANCER PATIENTS**

Glushkov A. N. ^a,
Polenok E. G. ^a,
Gordeeva L. A. ^a,
Mun S. A. ^a,
Studennikov A. E. ^a,
Eliseikin A. M. ^a,
Kostyanko M. V. ^b,
Zakharov V. N. ^c,
Antonov A. V. ^c,
Bayramov P. V. ^c,
Verzhbitskaya N. E. ^c,
Kolpinckiy G. I. ^{d, e}

^a Federal Research Center of Coal and Coal chemistry SB RAS, Institute of Human Ecology, Kemerovo, Russian Federation.

^b Kemerovo State University, Institute of Fundamental Sciences, Kemerovo, Russian Federation.

^c Kuzbass Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russian Federation.

^d Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russian Federation.

^e Kemerovo Clinical Diagnostic Center, Kemerovo, Russian Federation.

Резюме

Разрозненными исследованиями показано участие в возникновении и росте рака молочной железы (РМЖ): стероидных гормонов, эстрадиола и прогестерона (E2 и Pg); антител классов A и G против бензо[а]пирена (IgA₁-Bp и IgG₁-Bp), эстрадиола (IgA₁-E2 и IgG₁-E2), прогестерона (IgA₁-Pg и IgG₁-Pg) и антиидиотипических антител IgG₂-E2 и IgG₂-Pg. Предположим, что при одновременном воздействии всех этих факторов на опухолевые клетки эффекты одних из них могут взаимно усиливаться, а других – нивелироваться. В результате значимые ассоциации с поведением опухоли могут проявлять только некоторые из них. Цель выявить предполагаемое участие в регуляции пролиферативной активности опухоли E2 и Pg, IgA₁-Bp и IgG₁-Bp, IgA₁-E2 и IgG₁-E2, IgA₁-Pg и IgG₁-Pg, IgG₂-E2 и IgG₂-Pg у больных РМЖ. Антитела в сыворотке крови больных РМЖ (620 с I стадией и 638 – со II–IV стадиями) определяли методом ELISA, а концентрации E2 и Pg с помощью тест-систем «ИммуноФА-Эстрадиол», «ИммуноФА-ПГ» («Иммунотех», г. Москва). Содержание в опухоли протеина Ki67 анализировали стандартным иммуногистохимическим методом. Статистическую обработку выполняли с помощью CART-анализа по программе Statistica 13.0. У больных с I стадией РМЖ содержание в опухоли Ki67 положительных клеток было высоким при повышенных концентрациях Pg в сыворотке и зависело от уровней IgA₁-Bp, IgG₁-Bp, IgA₁-E2 и IgG₂-E2; у больных со II–IV стадиями РМЖ пролиферативная активность опухоли была повышенной при низких уровнях IgG₂-Pg и высоких IgA₁-Bp. Выявленные особенности обусловлены, вероятно, изменениями восприимчивости клеток-мишеней к исследованным факторам, поскольку их содержание в сыворотке у больных с I и со II–IV стадиями не различались. Иммуноанализ IgG₂-Pg и IgA₁-Bp рекомендуется использовать в оценке пролиферативной активности опухоли у больных РМЖ. Целесообразно исследовать антипролиферативные свойства искусственно полученных антител против рецептора Pg.

Ключевые слова: рак молочной железы, эстрадиол, прогестерон, бензо[а]пирен, антитела, Ki67.

Abstract

Early it was shown that steroid hormones, estradiol and progesterone (E2 и Pg); antibodies of A and G class against benzo[a]pyrene (IgA₁-Bp and IgG₁-Bp), estradiol (IgA₁-E2 and IgG₁-E2), progesterone (IgA₁-Pg and IgG₁-Pg) and corresponding antiidiotypic antibodies (IgG₂-E2 and IgG₂-Pg) influenced on breast carcinogenesis. It was proposed that some of these effects way be enriched or inhibited at the simultaneous action of all these factors in breast cancer patients (BCP). So only some of these hormones and autoantibodies may be shown the significance associations with tumor growth. Our study aimed for research the participation of E2 и Pg, IgA₁-Bp and IgG₁-Bp, IgA₁-E2 and IgG₁-E2, IgA₁-Pg and IgG₁-Pg, IgG₂-E2 and IgG₂-Pg in regulation of tumor proliferation in BCP. Blood serum autoantibodies in 1258 BCP (620 with I stage and 638 with II–IV stages) were studied using ELISA technique. Steroid hormones concentrations were measured using “ImmunoEA-Estradiol”, and “ImmunoEA-Pg” (“Immunotech”, Russia). Tumor Ki67 was determined by standard immunohistochemical technique. Statistical analysis of the results was performed using CART algorithm of Statistica13.0 Software. The levels of Ki67 positive cells in tumors of I stage BCP were high when blood serum Pg concentrations were high and depended on levels of IgA₁-Bp, IgG₁-Bp, IgA₁-E2 and IgG₂-E2. The levels of Ki67 positive cells in tumors of II–IV stages BCP were high when IgG₂-Pg were low and IgA₁-Bp were high. The levels of these factors were the same in the blood serum of I stage and II–IV stages BCP. So the revealed difference in associations of tumor proliferation with studied serum factors were depended on changes of tumor cells receptivity during cancer progression. Immunoanalysis of IgG₂-Pg and IgA₁-Bp may be used for determine of tumor proliferation in BCP. It is advisable to research the antiproliferative properties of manufactured antibodies against Pg receptor for replenishment of IgG₂-Pg deficit in BCP.

Keywords: breast cancer, estradiol, progesterone, benzo[a]pyrene, antibodies, Ki67.

1 Введение

Разработка и внедрение новых методов диагностики молекулярно-биологических подтипов рака молочной железы (РМЖ) позволяет оптимизировать имеющиеся схемы лечения с учетом индивидуальных особенностей опухоли у конкретных больных [4]. Продолжается поиск циркулирующих биологических маркеров прогрессии РМЖ, модулирующих пролиферативную активность опухоли, ее метастазирование и вероятность рецидива. В частности, обнаружено влияние некоторых цитокинов на содержание в опухоли маркера клеточной пролиферации, протеина Ki67, и на метастазирование РМЖ [1, 5, 21]. Меньшее внимание уделяется аутоантителам против стероидных гормонов и их клеточных рецепторов, потенциально способных модулировать гормонозависимый канцерогенез.

В результате многочисленных экспериментов убедительно доказано, что иммунизация животных против эстрадиола и прогестерона (E2 и Pg) сопровождалась повышением концентрации этих гормонов в сыворотке крови [7,18, 34]. При иммунизации крыс против E2 наблюдали торможение роста E2-зависимой опухоли при ее трансплантации, по мнению авторов, за счет связывания E2 гаптен-специфическими антителами [9]. Антитела против рецепторов E2 и Pg (ER и PR) проявляли внегеномные эффекты на культивируемые *in vitro* клетки опухоли молочной железы [8, 12, 39], так же, как и антиидиотипические антитела, специфичные к гормон-связывающим центрам моноклональных антител против E2 и реагирующие с мембранными ER [37].

Индукторами синтеза аутоантител против стероидных гормонов, очевидно, являются аддукты метаболитов E2 с ДНК, обнаруженные в клетках молочной железы и в опухолевых клетках [32, 33]. В свою очередь, в ответ на образование аутоантител против E2 и Pg могли бы появляться соответствующие антиидиотипические аутоантитела, по теории иммунологических сетей Йерне [28]. Наряду с этим, причиной индукции синтеза аутоантител против рецепторов стероидных гормонов могли бы быть соматические мутации в генах этих рецепторов, обнаруженные в опухолевых клетках у больных РМЖ [6, 19, 26].

Кроме этого, в прогрессии РМЖ могли бы принимать участие и антитела против химических канцерогенов окружающей среды, в частности, против бензо[а]пирена (Bp). Известны взаимоусиливающие эффекты Bp, E2 и их метаболитов на биологические свойства опухолевых клеток молочной железы *in vitro* [27, 29]. В экспериментах с монослоями эпителиальных клеток убедительно доказано протективное действие модельных антител, имитирующих секреторные антитела, защищающее клетки от Bp, и стимулирующее действие модельных антител, имитирующих сывороточные антитела, усиливающее транспорт Bp из окружающей среды в кровь и образование генотоксических метаболитов Bp в клетках-мишенях [14, 16]. Иммунизация животных против Bp сопровождалась перераспределением этого вещества по разным органам при его последующем введении [10, 25].

Индукторами синтеза антител против Вр у человека, очевидно, служат аддукты его метаболитов с ДНК, в которых Вр выступает в роли гаптена [20, 35, 36]. В сыворотке крови больных РМЖ были обнаружены антитела против Вр, уровни которых были выше, чем у здоровых женщин [11].

Ранее мы обнаружили синергическое действие аутоантител класса А против Е2 и Рg (IgA₁-Е2 и IgA₁-Рg), стимулирующее пролиферацию опухоли, и противоположное синергическое действие соответствующих антиидиотипических аутоантител класса G (IgG₂-Е2 и IgG₂-Рg), тормозящее пролиферацию опухоли, у больных со II–IV стадиями РМЖ [3]. Однако при этом не учитывалось очевидное одновременное присутствие в сыворотке крови этих больных, а значит и участие в регуляции прогрессии РМЖ следующих компонентов: самих стероидных гормонов, Е2 и Рg; идиотипических аутоантител класса G против Е2 и Рg (IgG₁-Е2 и IgG₁-Рg); антител обоих классов против Вр (IgA₁-Вр и IgG₁-Вр).

Оценить результирующее действие на опухоль столь большого количества потенциально активных компонентов сыворотки крови в естественных условиях у больных РМЖ – довольно сложная задача. В настоящей работе мы попытались решить ее с помощью относительного нового метода статистической обработки результатов – CART-анализа (Classification and Regression Tree), успешно применяемого в онкологии с подобными целями [30, 38].

Цель исследования – выявить предполагаемое участие в регуляции пролиферативной активности опухоли Е2 и Рg, IgA₁-Вр и IgG₁-Вр, IgA₁-Е2 и IgG₁-Е2, IgA₁-Рg и IgG₁-Рg, IgG₂-Е2 и IgG₂-Рg у больных РМЖ.

2 Материалы и методы

В настоящее исследование были включены 1258 женщин в постменопаузе. Все женщины впервые обратились в «Кузбасский клинический онкологический диспансер им. М.С. Раппопорта» г. Кемерово, до обращения к врачу-онкологу они не получали противоопухолевой химио- и/или гормонотерапии. У всех женщин была диагностирована «инвазивная карцинома молочной железы неспецифического типа». Согласно TNM классификации у обследованных женщин РМЖ I стадии был диагностирован в 47,0%; II стадии – в 38,6%; III стадии – в 13,1%; IV стадии – в 1,3% случаев. Медиана возраста составила 65 лет (интерквартильный размах 60–71 год).

Маркер пролиферативной активности Ki67 в опухолевых клетках определяли стандартным иммуногистохимическим методом в трепан-биоптатах, используя кроличьи антитела против Ki67 (клон 30-9 CONFIRM, Ventana, США).

Венозную кровь забирали до начала лечения и с письменного информированного согласия женщин на участие в научных исследованиях. При заборе материала руководствовались этическими принципами Хельсинской декларации (2013 г.) и «Правилами клинической практики в Российской Федерации» (Приказ Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003 г.).

Иммуноанализ идиотипических антител классов А и G, специфичных к бензо[а]пирену, эстрадиолу и прогестерону (IgA₁-Bp, IgA₁-E2, IgA₁-Pg, IgG₁-Bp, IgG₁-E2, IgG₁-Pg), осуществляли методом неконкурентного иммуноферментного анализа согласно методике [3]. Для сенсibilизации иммунологических планшетов использовали конъюгаты Bp, E2 или Pg с бычьим сывороточным альбумином. Связавшиеся антитела выявляли козьими антителами против IgA или IgG человека, меченными пероксидазой хрена (Invitrogen, США), с разведением 1/10000 для IgA антител и 1/7000 для IgG антител. Уровни исследуемых антител выражали в условных единицах (у.е.) и рассчитывали по формуле [3] с учетом фонового связывания с белком-носителем.

Иммуноанализ антиидиотипических антител класса G, специфичных к E2 и Pg (IgG₂-E2, IgG₂-Pg), определяли методом неконкурентного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов «ИммуноФА-Эстрадиол», «ИммуноФА-ПГ» («Иммунотех», г. Москва) с иммобилизованными на пластике моноклональными антителами против E2 или Pg согласно методике [3]. Для определения IgG₂-E2 и IgG₂-Pg использовали козы антитела против IgG человека, меченные пероксидазой хрена (Invitrogen, США), с разведением 1/30000. Уровни IgG₂-E2 и IgG₂-Pg выражали в условных единицах (у.е.) и рассчитывали по формуле [3] с учетом фонового связывания меченных пероксидазой хрена козьих антител против IgG человека с моноклональными антителами против E2 или Pg без добавления сыворотки крови.

Определение концентрации стероидных гормонов в сыворотке крови женщин осуществляли с помощью коммерческих наборов «ИммуноФА-Эстрадиол», «ИммуноФА-ПГ» («Иммунотех», г. Москва) согласно инструкции.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программы Statistica 13.0 (StatSoft Inc., USA). Различия между группами оценивали с помощью непараметрического критерия χ^2 с поправкой Йейтса на непрерывность вариации, т.к. распределение полученных показателей носило ненормальный характер согласно тесту по Шапиро-Уилку. Критический уровень значимости принимался $p < 0,05$. Оптимальные пороги отсечения (cut-off value) уровней исследуемых антител и гормонов были рассчитаны с помощью ROC-анализа между больными РМЖ I стадии с низким ($\leq 20\%$) и высоким ($> 20\%$) процентным содержанием Ki-67 положительных клеток в опухоли [24]. Для построения цифровых моделей ассоциаций исследованных сывороточных факторов с уровнем Ki67 положительных клеток в опухоли был использован алгоритм CART (Classification and Regression Trees). Для интерпретации полученных моделей были построены деревья решений, оптимальные значения гиперпараметров (максимальная глубина дерева, минимальное количество наблюдений в листе) были выбраны методом перекрестной валидации с целью минимизации ошибки классификации и предотвращения переобучения.

3 Результаты

С помощью ROC-анализа определили значения уровней исследуемых гормонов и аутоантител (cut-off), по которым больные с I стадией РМЖ различались по содержанию в опухоли Ki67 положительных клеток ($\leq 20\%$ и $> 20\%$). При анализе каждого из указанных факторов сыворотки по отдельности искомые ассоциации с пролиферативной активностью опухоли обнаружены в следующих случаях (табл. 1). У больных с I стадией высокое содержание в сыворотке E2 (> 200 pmol/L) и Pg (> 700 pmol/L) было взаимосвязано с большим удельным весом активно пролиферирующих опухолей ($p = 0,03$ и $p = 0,001$, соответственно). Частота обнаружения опухолей с высоким содержанием Ki67 экспрессирующих клеток не была ассоциирована с уровнями остальных изучаемых факторов у больных с I стадией РМЖ. У больных со II–IV стадиями искомые положительные взаимосвязи выявлены только с IgA₁-Bp > 4 у.е. ($p = 0,038$) и отрицательные с IgG₂-Pg $> 2,5$ ($p = 0,02$). Следует отметить, что удельный вес больных с активно пролиферирующими опухолями у больных со II–IV стадиями был больше, чем у больных с I стадией ($p < 0,001$) как при низких, так и при высоких уровнях исследованных гормонов и аутоантител.

Однако такой распространенный метод статистической обработки результатов не дает совокупной оценки взаимосвязей всего комплекса потенциальных предикторов с теми или иными показателями прогрессии опухоли.

CART-анализ позволяет выделить из единого широкого спектра изучаемых факторов наиболее ассоциированные с теми или иными признаками прогрессии опухоли и сформировать наиболее значимые индивидуальные комбинации их содержания в сыворотке крови. При этом менее значимые (статистически недостоверные) факторы и их комбинации остаются за рамками так называемого «дерева решений».

Поскольку содержание в сыворотке указанных в цели настоящей работы гормонов и аутоантител и/или восприимчивость к ним клеток опухоли могли меняться по мере прогрессии РМЖ, CART-анализ использовали для исследования больных с I и со II–IV стадиями по-отдельности. На рисунке 1 приведено «дерево решений» для больных с I стадией РМЖ.

Из 620 пациенток 353 (56,9%) имели опухоли с низким содержанием Ki67 положительных клеток ($\leq 20\%$). У остальных 267 (43,1%) обнаружены активно пролиферирующие опухоли с Ki67 $> 20\%$. Самым значимым фактором, определяющим пролиферативную активность опухоли, оказался Pg. При низких его концентрациях в сыворотке (≤ 490 pmol/L у 155 больных) активно пролиферирующие опухоли встречались в 29,7%, а при высоких концентрациях (> 490 pmol/L у 465 больных), такие опухоли диагностированы в 47,5% ($p = 0,001$).

В этой группе пролиферативная активность опухоли зависела от уровня IgA₁-Bp. У 153 больных с низкими уровнями этих антител ($\leq 2,7$ у.е.) опухоли

с Ki67>20% обнаруживали в 56,9%, а у 312 больных с высокими уровнями IgA₁-Bp (>2,7 у.е.) – в 42,95% (p = 0,007).

В свою очередь, из 312 больных с высоким содержанием Pg (>490 pmol/L) + IgA₁-Bp (>2,7 у.е.) у 140 обнаруживали высокие уровни IgG₂-E2 (>4,6 у.е.) и активно пролиферирующие опухоли в 32,1%, а у 172 больных – низкие уровни IgG₂-E2 (≤4,6 у.е.) и опухоли с Ki67>20% в 51,7% (p = 0,001).

В этой группе распределение больных зависело от IgA₁-E2. При низких уровнях этих антител (≤2,1 у.е.) у 23 больных активно пролиферирующие опухоли диагностированы в 21,7%, а при высоких их уровнях (>2,1 у.е.) у 149 больных – в 56,4% (p = 0,005).

Из этих 149 женщин выделялись 66 больных с содержанием Pg от 490 до 886 pmol/L с активно пролиферирующими опухолями в 69,7% случаев и 83 больных с Pg >886 pmol/L и с уровнями Ki67>20% в 45,8% (p = 0,006).

И наконец, у 16 больных из этих 83 обнаруживали низкие уровни IgG₁-Bp (≤6,4 у.е.) и активно пролиферирующие опухоли в 75,0 %, а у 67 – высокие уровни IgG₁-Bp (>6,4 у.е.) и Ki67>20% – в 38,3% случаев (p = 0,02).

Таким образом, CART-анализ показал, что у больных с I стадией РМЖ количество Ki67 положительных клеток в опухоли было взаимосвязано со следующими пятью исследуемыми факторами сыворотки: Pg, IgA₁-Bp, IgG₂-E2, IgA₁-E2 и IgG₁-Bp. С остальными пятью статистически значимых ассоциаций не обнаружено. Построенное «дерево решений» сформировало 7 групп больных по индивидуальным комбинациям указанных факторов, значимо взаимосвязанных с пролиферативной активностью опухоли. Итоговый результат CART-анализа по больным I стадии РМЖ представлен в **таблице 2**.

Видно, что в группах 2, 5 и 6 с общим количеством больных 235 (37,9%) активно пролиферирующие опухоли встречались чаще, чем в среднем при I стадии РМЖ в 56,9 – 75,0%. В группах 1, 3 и 4 с общим количеством больных 318 (51,3%) такие опухоли обнаруживались реже, в 21,7–32,1%. И в группе 7 (67 человек, 10,8%) эта частота (38,8%) не отличалась значительно от средней по всем больным с I стадией РМЖ (43,1%).

На **рисунке 2** представлены результаты CART-анализа больных РМЖ на II–IV стадиях. У 392 из 638 (61,4%) Ki67 положительных клеток в опухоли было >20%. Наиболее значимыми из исследованных факторов сыворотки оказались только IgG₂-Pg и IgA₁-Bp. У 180 больных с невысокими уровнями IgG₂-Pg (≤1,9 у.е.) активно пролиферирующие опухоли обнаружены в 72,8%, а у 458 больных с высокими уровнями (>1,9 у.е.) – в 57,0% (p<0,001).

Из этих 458 человек у 406 содержание IgG₂-Pg оказалось в интервале от 1,9 до 4,1 у.е., с активно пролиферирующими опухолями в 59,1%. У 52 больных обнаружены высокие уровни IgG₂-Pg (>4,1 у.е.) и активно пролиферирующие опухоли в 40,4% (p = 0,016).

В свою очередь, эти 52 больные были разделены на 2 подгруппы в зависимости от уровней IgA₁-Bp. 29 из них с низкими уровнями (≤3,7 у.е.) и небольшой частотой активно пролиферирующих опухолей (24,1%). У 23

больных уровни IgA₁-Вр были выше 3,7 у.е. и активно пролиферирующие опухоли встречались в 60,9% ($p = 0,008$).

Таким образом, обнаружались явные различия между больными с I и со II–IV стадиями РМЖ по взаимосвязям исследуемых факторов в сыворотке и количеством Ki67 экспрессирующих клеток в опухоли. Обусловлены ли эти различия изменениями чувствительности опухолевых клеток к этим факторам при ее росте или изменяются их уровни в сыворотке с течением заболевания? Для ответа на этот вопрос у больных с I стадией РМЖ были выделены 4 подгруппы с такими же параметрами IgG₂-Pg и IgA₁-Вр, какие определились при CART-анализе больных со II–IV стадиями. Оказалось (табл. 3), что удельный вес больных в каждой из выделенных подгрупп при I стадии почти не отличался от такового при II–IV стадиях (различия между ними не более 2,0%).

Это косвенно подтверждает предположение о том, что индивидуальные комбинации содержания исследуемых гормонов и аутоантител, присущие пациенткам в начале заболевания, сохраняются при его развитии, изменяется только восприимчивость к ним клеток-мишеней при прогрессии опухоли.

При этом обнаружили характерные различия между больными с I и со II–IV стадиями в каждой из выделенных подгрупп по количеству активно пролиферирующих опухолей ($\Delta Ki67 > 20\%$). У больных с низкими уровнями IgG₂-Pg ($< 1,9$ у.е.) удельный вес таких опухолей возрастал на 29,6% ($p < 0,001$); у больных с уровнями IgG₂-Pg в интервале 1,9–4,1 у.е. он увеличивался на 17,3% ($p < 0,001$); при высоких уровнях IgG₂-Pg $> 4,1$ у.е. в комбинации с высокими уровнями IgA₁-Вр $> 3,7$ такое увеличение составляло 15,7% ($p = 0,386$). Напротив, у больных с IgG₂-Pg $> 4,1$ у.е. в комбинации с низкими уровнями IgA₁-Вр $\leq 3,7$ у.е. активно пролиферирующие опухоли обнаруживали реже при II–IV стадиях по сравнению с I на 29,7% ($p = 0,027$).

Среди больных РМЖ со II–IV стадиями и низкими уровнями IgG₂-Pg $< 1,9$ у.е. (позиция 1 в табл. 3) выделили 2 подгруппы: с высокими и низкими уровнями IgA₁-Вр (позиции 1.1 и 1.2). Оказалось, что больных с активно пролиферирующими опухолями в подгруппе 1.1 было значимо больше, чем в подгруппе 1.2 (82,6% vs 62,5%, $p = 0,004$), и значимо больше, чем у больных с одновременно высокими уровнями IgG₂-Pg $> 4,1$ + IgA₁-Вр $> 3,7$ (позиция 3): 82,6% vs 60,9%, $p = 0,048$).

Так же из группы больных со II–IV стадиями РМЖ с уровнями IgG₂-Pg в интервале 1,9–4,1 у.е. (позиция 2 в табл. 3) выделили 2 подгруппы с высокими и низкими уровнями IgA₁-Вр (позиции 2.1 и 2.2). Выяснилось, что больных с активно пролиферирующими опухолями в подгруппе 2.2 значимо больше, чем в группе 4 с более высокими уровнями IgG₂-Pg $> 4,1$ у.е. в сочетании с низкими уровнями IgA₁-Вр $\leq 3,7$ у.е. (59,5% vs 24,1%, $p < 0,001$).

4 Обсуждение

Поиск новых иммунологических маркеров прогрессии опухоли и потенциальных средств иммунотерапии затрудняется сложностью взаимодействия различных иммунологических факторов с их мишенями и

между собой. Например, если Pg угнетает E2 индуцированную пролиферацию опухолевых клеток молочной железы, как это было показано *in vitro* [13], то связывание Pg гаптен-специфическими аутоантителами у больных РМЖ *in vivo* может усиливать пролиферативное действие E2 даже при небольшой концентрации последнего. В свою очередь, связывание активных центров Pg-специфических аутоантител соответствующими антиидиотипическими аутоантителами «высвобождают» Pg и усиливают его антипролиферативное действие. При этом такие антиидиотипические аутоантитела, связываясь с мембранными PR, агонистически имитируют антипролиферативное действие Pg. Однако такое действие может быть заблокировано Pg-специфическими аутоантителами.

Если учесть, что в сыворотке крови одновременно присутствуют и гормоны с различными биологическими эффектами, и гормон-специфические аутоантитела, и соответствующие антиидиотипические аутоантитела (или аутоантитела, специфичные к стероидным гормонам), и антитела против химических канцерогенов, участвующих в малигнизации клеток-мишеней и т.д., то вклад каждого из них в результирующее действие всех участников интерпретировать довольно затруднительно. При этом и восприимчивость опухоли к внеклеточным факторам, очевидно, меняется по мере роста и при метастазировании, хотя бы вследствие снижения экспрессии рецепторов или их соматических мутаций.

Анализ взаимосвязей пролиферативной активности опухоли с содержанием в сыворотке каждого из исследованных факторов по отдельности с помощью ROC-анализа показал следующее. Опухоли с высоким содержанием Ki67 положительных клеток обнаруживали чаще при высоких уровнях E2 (>200 pmol/L, $p = 0,03$) и Pg (>700 pmol/L, $p = 0,001$) у больных с I стадией РМЖ. Это соответствует известным данным о совместном участии Pg и E2 в возникновении РМЖ, на начальном этапе прогрессии [13, 31, 40].

У больных со II–IV стадиями искомых взаимосвязей с концентрацией гормонов в сыворотке не выявлено. В отличие от I стадии обнаружили положительные ассоциации высокого содержания в опухоли Ki67 положительных клеток с высокими уровнями IgA₁-Bp >4 у.е. ($p = 0,038$) и отрицательные с высокими уровнями IgG₂-Pg $>2,5$ у.е. ($p = 0,02$). Ни с какими другими исследованными факторами сыворотки никаких ассоциаций не выявлено при исследовании ROC-анализа.

Учитывая большее или меньшее участие отдельных факторов в регуляции прогрессии опухоли и/или возможное взаимное нивелирование разнонаправленных биологических эффектов некоторых из них, оценили влияние всей совокупности этих факторов на пролиферацию опухоли с помощью CART-анализа.

У больных с I стадией РМЖ основным фактором, определяющим пролиферативную активность опухоли, оказался Pg. Его влияние не зависело от концентрации E2 в сыворотке. У больных с низкими уровнями Pg (≤ 460 pmol/L) активно пролиферирующие опухоли определялись реже, чем у

307 больных с высокими уровнями ($p = 0,001$), что соответствовало результату по
308 ROC-анализу. Вместе с тем, у больных с высоким содержанием Pg (>490
309 pmol/L) пролиферативная активность опухоли зависела от уровней IgA₁-Bp,
310 IgG₁-Bp, IgA₁-E2, IgG₂-E2.

311 По индивидуальным комбинациям высоких и низких уровней указанных
312 аутоантител выделены отдельные подгруппы больных с высокой и низкой
313 пролиферативной активностью опухоли. Сопоставление некоторых из них
314 дает приблизительное представление об участии этих антител в Pg-зависимой
315 регуляции пролиферации опухоли. Например, у больных с высоким
316 содержанием Pg и комбинацией [IgA₁-Bp $>2,7$ у.е. + IgA₁-E2 $>2,1$ у.е. + IgG₂-
317 E2 $\leq 4,6$ у.е.] активно пролиферирующие опухоли встречались в 69,7%, а у
318 больных с комбинациями [IgA₁-Bp $>2,7$ у.е. + IgA₁-E2 $\leq 2,1$ у.е. + IgG₂-E2 $\leq 4,6$
319 у.е.] – значительно реже, в 21,7% ($p < 0,001$). Можно предположить, что IgA₁-
320 Bp способны стимулировать Pg-зависимую пролиферацию опухоли только в
321 присутствии IgA₁-E2 и отсутствии IgG₂-E2. Другой пример, у больных с
322 комбинацией [IgA₁-Bp $>2,7$ у.е. + IgA₁-E2 $>2,1$ у.е. + IgG₂-E2 $\leq 4,6$ у.е. + IgG₁-
323 Bp $\leq 6,4$ у.е.] активно пролиферирующие опухоли обнаруживали в 75,0%, а
324 если уровни IgG₁-Bp были высокие ($>6,4$ у.е.) – значительно реже, в 38,8% (p
325 = 0,02). В данном случае IgG₁-Bp угнетал синергический эффект IgA₁-Bp +
326 IgA₁-E2, стимулирующий Pg-зависимую пролиферацию опухоли.

327 У больных со II–IV стадиями РМЖ значимыми факторами,
328 ассоциированными с пролиферацией опухоли по CART-анализу, оказались
329 IgG₂-Pg и IgA₁-Bp, что соответствовало результатам ROC-анализа. При низких
330 уровнях IgG₂-Pg $\leq 1,9$ у.е. независимо от всех других исследованных факторов,
331 в том числе E2 и Pg, опухоли с высоким содержанием Ki67 положительных
332 клеток встречались чаще, чем при высоких (72,8% vs 57,0%, $p = 0,001$). У
333 больных с уровнями IgG₂-Pg от 1,9 до 4,1 у.е. активно пролиферирующие
334 опухоли обнаруживали с частотой, средней для II–IV стадии (59,1%).
335 Удельный вес больных с высокими уровнями IgG₂-Pg $>4,1$ у.е. и активно
336 пролиферирующими опухолями зависел от IgA₁-Bp. При низких уровнях IgA₁-
337 Bp $\leq 3,7$ у.е. он составлял 24,1%, а при высоких ($>3,7$ у.е.) – 60,9% ($p = 0,008$).
338 Таким образом, у больных РМЖ на II–IV стадиях IgG₂-Pg тормозил
339 пролиферацию опухоли, особенно в отсутствии IgA₁-Bp. Полное
340 нивелирование тормозящего действия IgG₂-Pg имело место в присутствии
341 IgA₁-Bp.

342 Таким образом, выявлены явные различия во взаимосвязях
343 пролиферативной активности опухоли с содержанием в сыворотке крови
344 исследованных гормонов и аутоантител в начале заболевания и при
345 дальнейшей прогрессии РМЖ. Это послужило основанием в поиске
346 информативных предикторов скорости роста опухоли у больных с I стадией
347 РМЖ.

348 С этой целью больных I стадией разделили на 4 группы,
349 соответствующие 4 группам больных со II–IV стадиями по параметрам IgG₂-
350 Pg и IgA₁-Bp, определенным по CART-анализу (табл. 3). Оказалось, что

представительство (удельный вес) больных в каждой группе при I стадии такое же, как и при II–IV стадиях. Это означало, что иммунологический фенотип (IgG₂-Pg и IgA₁-Bp), присущий больным при возникновении опухоли, сохранялся при ее дальнейшем росте, и различия по CART-анализу между больными с I и со II–IV стадиями были обусловлены, очевидно, изменениями чувствительности к ним клеток-мишеней. Поэтому по исходным иммунологическим параметрам в начале заболевания можно судить о прогнозе скорости роста опухоли в дальнейшем.

Оказалось, что удельный вес больных с активно пролиферирующими опухолями возрастает от I ко II–IV стадиям на 29,6% ($p < 0,001$) в группе с низкими уровнями IgG₂-Pg ($< 1,9$ у.е.); на 17,3% ($p < 0,001$) в группе с уровнями IgG₂-Pg в интервале 1,9–4,1 у.е.; на 15,7% ($p = 0,386$) в группе с высокими уровнями IgG₂-Pg ($> 4,1$ у.е.) в комбинации с высокими уровнями IgA₁-Bp ($> 3,7$ у.е.). В группе с высокими уровнями IgG₂-Pg в комбинации с низкими уровнями IgA₁-Bp ($\leq 3,7$ у.е.) имело место снижение удельного веса таких больных на 29,7% ($p = 0,027$).

Таким образом, IgG₂-Pg и IgA₁-Bp у больных РМЖ на I стадии можно рассматривать как перспективные предикторы дальнейшей скорости роста опухоли. Аналогичный алгоритм определения 5 потенциальных предикторов по полученным результатам CART-анализа больных с I стадией РМЖ (рис. 1) представляется значительно более трудоемким и затратным.

Очевидную значимость дефицита IgG₂-Pg, ассоциированного с высокой пролиферативной активностью опухоли, можно рассматривать как возможность искусственного восполнения этого дефицита для торможения роста опухоли. Расчеты, приведенные в таблице 3, показали, что при дефиците IgG₂-Pg ($< 1,9$ у.е.) в комплексе с высокими уровнями IgA₁-Bp ($> 3,7$ у.е.) удельный вес больных с активно пролиферирующими опухолями на II–IV стадиях составлял 82,6%, но при повышении уровня IgG₂-Pg $> 4,1$, этот показатель мог бы снизиться до 60,9% ($p = 0,048$). При комбинации IgG₂-Pg $< 1,9$ у.е. + IgA₁-Bp $\leq 3,7$ у.е. удельный вес больных с активно пролиферирующими опухолями равнялся 62,5%, а при повышении уровня IgG₂-Pg выше 4,1 у.е. это значение могло бы снизиться до 24,1% ($p < 0,001$).

Если исследованные нами антиидиотипические аутоантитела IgG₂-Pg действительно связываются с мембранными PR и проявляют выраженное антипролиферативное действие, то создание искусственных анти-PR антител для лечения РМЖ (по аналогии широко применяемыми антителами против рецепторов эпидермального фактора роста, герцептином и др.) представляется весьма перспективным.

Не меньшее внимание привлекают IgA₁-Bp, избыток которых ($> 3,7$ у.е.) ассоциирован с высокой пролиферативной активностью опухоли у больных со II–IV стадиями РМЖ как при низких уровнях IgG₂-Pg ($< 1,9$ у.е., $p = 0,004$), так и при высоких ($> 4,1$ у.е., $p = 0,017$). На основании результатов известных экспериментов *in vitro* [15, 17] можно предположить, что исследованные нами IgA₁-Bp, будучи сывороточными, способствуют проникновению Bp из

окружающей среды в кровь, а по принадлежности к А классу секретируются в протоки молочной железы и тем самым способствуют накоплению в клетках-мишенях Вр, образованию генотоксических аддуктов Вр-ДНК и эпигенетической стимуляции пролиферации совместно с E2. В таком случае, предотвращение проникновения Вр из окружающей среды в кровь могло бы нивелировать стимулирующее пролиферацию опухолевых клеток действие сывороточных IgA₁-Вр. Различные подходы к созданию новых средств иммунопрофилактики химического стероид-зависимого канцерогенеза обсуждались нами ранее [2, 22, 23].

5 Заключение

Значимые взаимосвязи пролиферативной активности опухоли выявлены с помощью CART-анализа: у больных с I стадией РМЖ – с содержанием в сыворотке Pg, IgA₁-Вр, IgG₁-Вр, IgA₁-E2, IgG₂-E2; у больных со II–IV стадиями – с IgG₂-Pg и IgA₁-Вр. Обнаруженные различия обусловлены, очевидно, изменениями восприимчивости клеток-мишеней к стероидным гормонам и аутоантителам, специфичным к Вр, E2, Pg, ER и PR, но не изменениями уровней этих факторов в сыворотке крови по мере роста опухоли. Рекомендуются использовать иммуноанализ IgG₂-Pg и IgA₁-Вр в качестве дополнительного метода оценки пролиферативной активности опухоли. Целесообразно исследовать возможность применения рекомбинантных антител, специфичных к PR, в качестве антипролиферативных средств в лечении РМЖ.

Источник финансирования/Funding

Работа выполнена в рамках государственного задания Проект № 124041100077-1 «Иммуно-гормональные взаимодействия при раке молочной железы» Министерства науки и образования Российской Федерации.

The work was carried out according to the state assignment (project 124041100077-1) of the Ministry of Science and Education of the Russia.

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Число (n) и доля (%) больных рмж с низким ($\leq 20\%$) и высоким ($> 20\%$) содержанием в опухоли ki67 положительных клеток в зависимости от низких ($\leq$) и высоких ($>$) уровней исследованных факторов в сыворотке крови по roc-анализу.

Table 1. Number (n) and prevalence (%) of bcr with low ($\leq 20\%$) and high ($> 20\%$) levels of ki67positive tumor cells depended on personal studied blood serum factors according to roc-analysis.

Гормоны, антитела Hormones, antibodies	РМЖ I стадия (N = 620)		РМЖ II–IV стадии (N = 638)	
	Ki67 $\leq 20\%$	Ki67 $> 20\%$	Ki67 $\leq 20\%$	Ki67 $> 20\%$
	n / %	n / %	n / %	n / %
1.1 E2 ≤ 200	238 / 60,4	156 / 39,6	146 / 40,0	215 / 59,6
1.2 E2 > 200	115 / 50,9	111 / 49,1	100 / 36,1	177 / 63,9
χ^2 (p), df = 1	4,9 (0,03)		1,1 (0,30)	
2.2 Pg ≤ 700	176 / 64,2	98 / 35,8	108 / 39,3	167 / 60,7
2.2 Pg > 700	177 / 51,2	169 / 48,8	138 / 38,0	225 / 62,0
χ^2 (p), df = 1	10,1 (0,001)		0,06 (0,81)	
3.1 IgA ₁ -Bp ≤ 4	187 / 54,5	156 / 45,5	155 / 42,1	213 / 57,9
3.2 IgA ₁ -Bp > 4	166 / 59,9	111 / 40,1	91 / 33,7	179 / 66,3
χ^2 (p), df = 1	1,6 (0,20)		4,3 (0,038)	
4.1 IgG ₁ -Bp ≤ 11	197 / 56,3	153 / 43,7	142 / 38,9	223 / 61,1
4.2 IgA ₁ -Bp > 11	156 / 57,8	114 / 42,2	104 / 38,1	169 / 61,9
χ^2 (p), df = 1	0,1 (0,77)		0,02 (0,90)	
5.1 IgA ₁ -E2 ≤ 3	188 / 57,1	141 / 42,9	143 / 41,7	200 / 58,3
5.2 IgA ₁ -E2 > 3	165 / 56,7	126 / 43,3	103 / 34,9	192 / 65,1
χ^2 (p), df = 1	0,01 (0,98)		2,7 (0,09)	
6.1 IgG ₁ -E2 ≤ 8	160 / 55,7	127 / 44,3	116 / 35,9	207 / 64,1
6.2 IgG ₁ -E2 > 8	193 / 57,9	140 / 42,1	130 / 41,3	185 / 58,7
χ^2 (p), df = 1	0,22 (0,64)		1,7 (0,19)	
7.1 IgA ₁ -Pg ≤ 2	204 / 57,9	148 / 42,1	138 / 41,4	195 / 58,6
7.2 IgA ₁ -Pg > 2	149 / 55,6	119 / 44,4	108 / 35,4	197 / 64,6
χ^2 (p), df = 1	0,3 (0,61)		2,2 (0,14)	
8.1 IgG ₁ -Pg ≤ 4	149 / 57,8	109 / 42,2	103 / 38,7	163 / 61,3
8.2 IgG ₁ -Pg > 4	204 / 56,4	158 / 43,6	143 / 38,4	229 / 61,6
χ^2 (p), df = 1	0,1 (0,79)		0,01 (0,99)	
9.1 IgG ₂ -E2 ≤ 4	153 / 56,9	116 / 43,1	121 / 36,2	213 / 63,8
9.2 IgG ₂ -E2 > 4	200 / 56,9	151 / 43,1	125 / 41,1	179 / 58,9
χ^2 (p), df = 1	0,01 (0,96)		1,4 (0,24)	
10.1 IgG ₂ -Pg $\leq 2,5$	175 / 55,0	143 / 45,0	109 / 33,9	212 / 66,1

10.2 IgG ₂ -Pg >2,5	178 / 58,9	124 / 41,1	137 / 42,3	180 / 57,7
χ^2 (p), df = 1	0,8 (0,37)		5,4 (0,02)	

Таблица 2. Индивидуальные комбинации содержания в сыворотке исследуемых факторов, значимо ассоциированных с уровнем Ki67+ клеток в опухоли (%), у 620 больных РМЖ I стадии по CART-анализу.

Table 2. Individual combinations of studied factors serum levels significantly associated with the level of Ki67+ tumor cells (%) in 620 breast cancer patients with stage I according to CART analysis.

Факторы сыворотки	Содержание фактора в сыворотке по группам удельный вес больных с высоким содержанием Ki67+ клеток в опухоли (%)						
	1	2	3	4	5	6	7
	29,7%	56,9%	32,2%	21,7%	69,7%	75,0%	38,8%
1. E2 pmol / L	---	---	---	---	---	---	---
2. Pg pmol / L	≤490	>490	>490	>490	490-886	>886	>886
3. IgA ₁ -Bp y.e.	---	≤2,7	>2,7	>2,7	>2,7	>2,7	>2,7
4. IgG ₁ -Bp y.e.	---	---	---	---	---	≤6,4	>6,4
5. IgA ₁ -E2 y.e.	---	---	---	≤2,1	>2,1	>2,1	>2,1
6. IgG ₁ -E2 y.e.	---	---	---	---	---	---	---
7. IgA ₁ -Pg y.e.	---	---	---	---	---	---	---
8. IgG ₁ -Pg y.e.	---	---	---	---	---	---	---
9. IgG ₂ -E2 y.e.	---	---	>4,6	≤4,6	≤4,6	≤4,6	≤4,6
10. IgG ₂ -Pg y.e.	---	---	---	---	---	---	---
n / %	155 / 25,0	153 / 24,7	140 / 22,6	23 / 3,7	66 / 10,6	16 / 2,6	67 / 10,8

Таблица 3. Число (n) и доля (%) больных РМЖ с низким ($\leq 20\%$) и высоким ($> 20\%$) содержанием в опухоли Ki67 положительных клеток в зависимости от индивидуальных комбинаций уровней исследованных факторов сыворотки крови по CART-анализу.

Table 3. Number (n) and prevalence (%) of BCP with low ($\leq 20\%$) and high ($> 20\%$) levels of Ki67 positive tumor cells depended on personal studied blood serum factors according to CART-analysis.

Уровни исследованн ых факторов и их комбинации по CART- анализу Studied factors levels and their combinations according to CART- analysis	РМЖ I стадия BCP I Stage N = 620			РМЖ II–IV стадии BCP II–IV Stages N = 638			p I–(II–IV) Δ Ki67>20%
	n / %	Ki67 n / %		n / %	Ki67 n / %		
		≤20%	>20%		≤20%	>20%	
1. IgG ₂ -Pg <1,9	167 / 26,9	95 / 56,8	72 / 43,2	180 / 28,2	49 / 27,2	131 / 72,8	<0,001 +29,6
2. IgG ₂ -Pg 1,9- 4,1	383 / 61,8	223 / 58,2	160 / 41,8	406 / 63,6	166 / 40,9	240 / 59,1	<0,001 +17,3
3. IgG ₂ -Pg >4,1 + IgA ₁ -Bp >3,7	31 / 5,0	17 / 54,8	14 / 45,2	23 / 3,6	9 / 39,1	14 / 60,9	0,386 +15,7
4. IgG ₂ -Pg >4,1 + IgA ₁ -Bp ≤3,7	39 / 6,3	18 / 46,2	21 / 53,8	29 / 4,6	22 / 75,9	7 / 24,1	0,027 -29,7
p 1–2 p 1–3 p 1–4 p 2–4 p 3–4		0,843 0,989 0,301 0,200 0,630			0,003 0,344 <0,001 <0,001 0,017		
1.1 IgG ₂ - Pg<1,9 + IgA ₁ -Bp >3,7	82 / 14,8	53 / 57,6	39 / 42,4	92 / 14,4	16 / 17,4	76 / 82,6	<0,001 +40,2
1.2 IgG ₂ -Pg <1,9	75 / 12.1	42 / 56.0	33 / 44.0	88 / 13.8	33 / 37,5	55 / 62.5	0,028 +18.5

+ IgA ₁ -Bp ≤3,7							
2.1 IgG ₂ -Pg 1,9–4,1 +IgA ₁ -Bp >3,7	182 29,4	/ 116 63,7	/ 66 36,3	/ 186 29,2	/ 77 41,4	/ 109 58,6	<0,001 +22,3
2.2 IgG ₂ -Pg 1,9–4,1 + IgA ₁ -Bp ≤3,7	201 32,4	/ 107 57,2	/ 94 42,8	/ 220 34,5	/ 89 40,5	/ 131 59,5	0,011 +16,7
p 1.1–1.2	0,959			0,004			
p 3–1.1	0,952			0,048			
p 4–2.2	0,403			<0,001			
p 4–1.2	0,318			<0,001			

РИСУНКИ

Рисунок 1. CART-анализ исследуемых гормонов и аутоантител в соответствии с низким ($\leq 20\%$) и высоким ($>20\%$) содержанием в опухоли Ki67 положительных клеток у 620 больных I стадии РМЖ.

Figure 1. CART-analysis of the studied hormones and autoantibodies according to low ($\leq 20\%$) and high ($>20\%$) levels of Ki67 positive tumor cells in 620 I stage BCP.

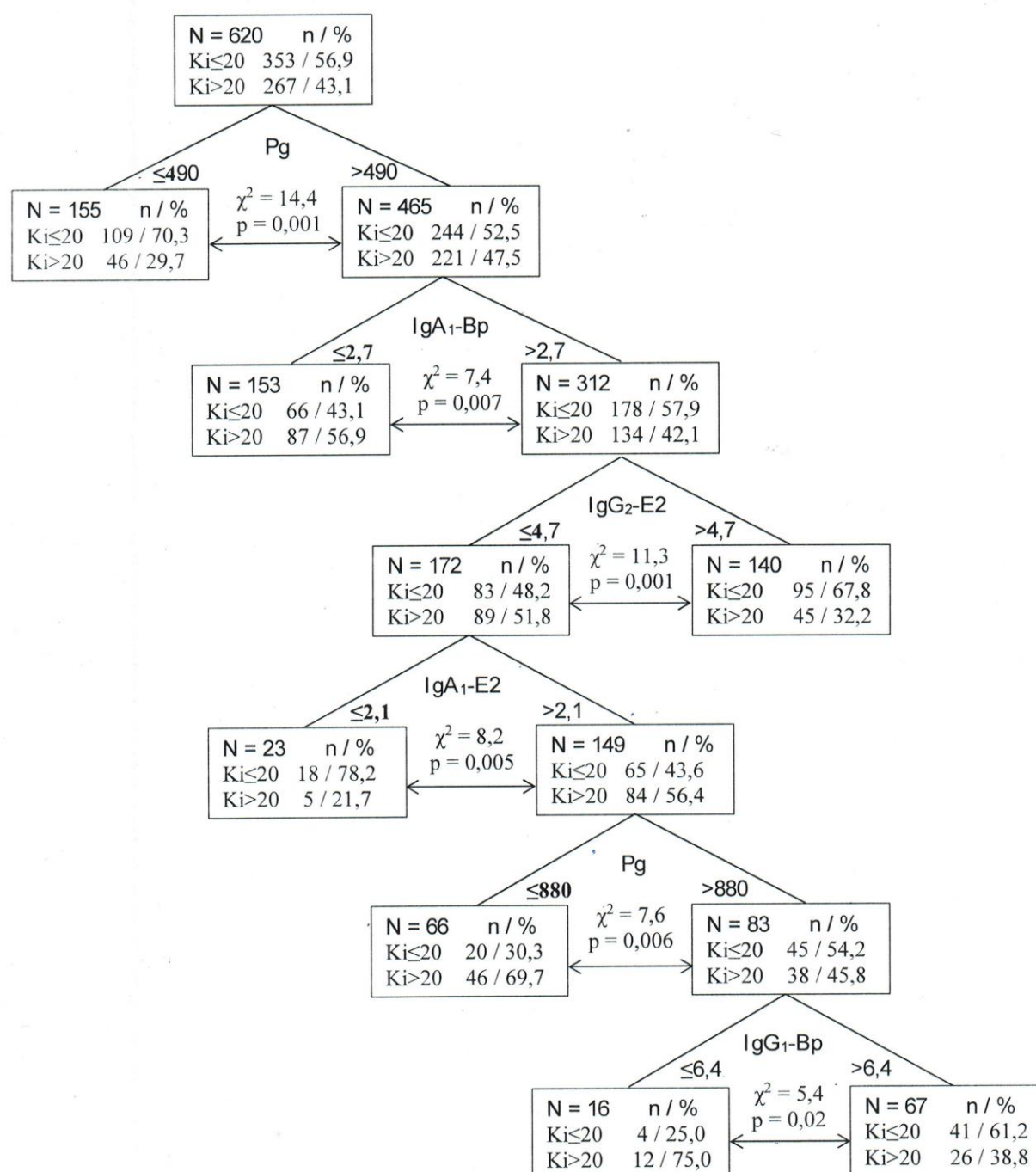
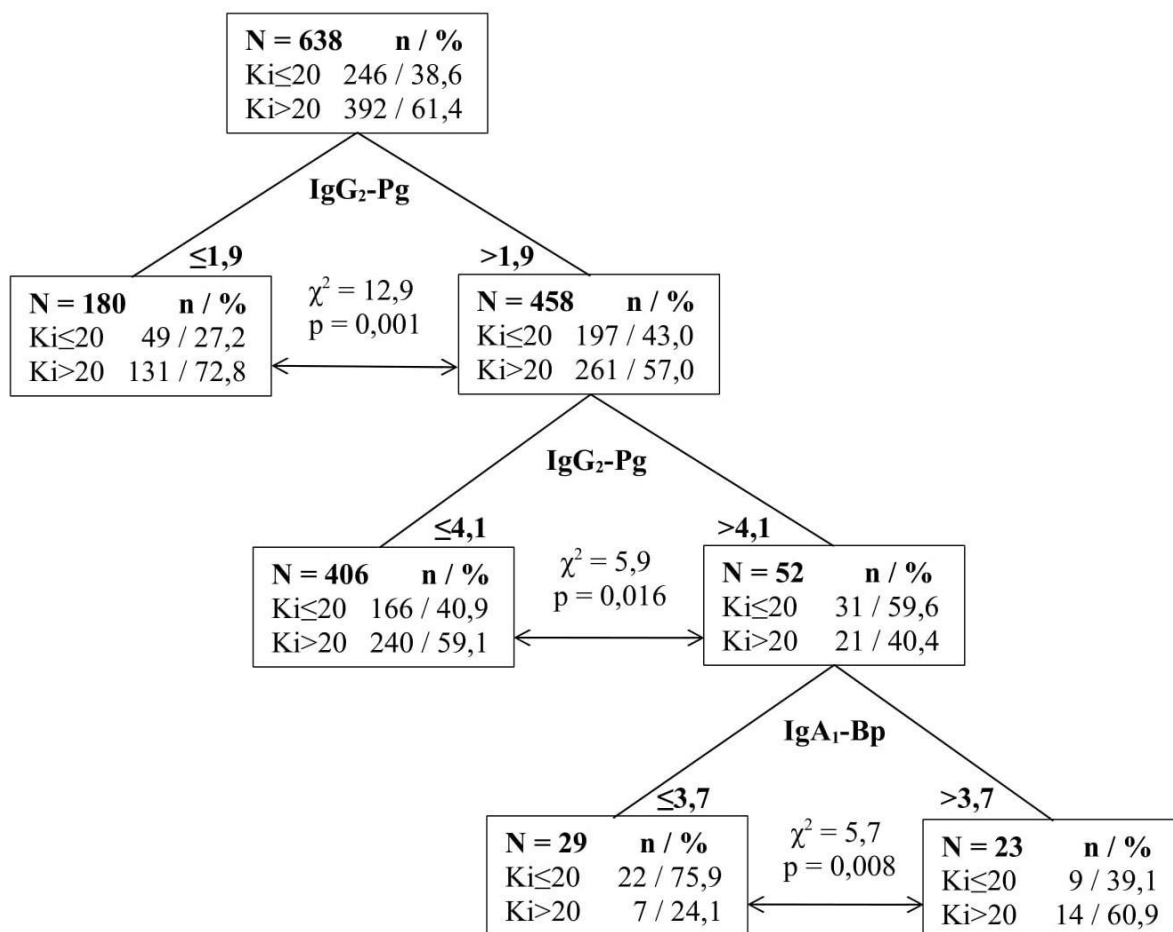


Рисунок 2. CART-анализ исследуемых гормонов и аутоантител в соответствии с низким ($\leq 20\%$) и высоким ($>20\%$) содержанием в опухоли Ki67 положительных клеток у 638 больных II–IV стадии РМЖ.

Figure 2. CART-analysis of studied hormones and autoantibodies according to low ($\leq 20\%$) and high ($>20\%$) levels of Ki67 positive tumor cells in 638 II–IV stages BCR.



ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Поленок Елена Геннадьевна – кандидат фармацевтических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунохимии Института экологии человека, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук», 650065, г. Кемерово, пр-т Ленинградский, 10, Россия;

адрес: Институт экологии человека ФИЦ УУХ СО РАН, 650065, г. Кемерово, проспект Ленинградский, 10;

телефоны: 8(3842)57-50-79; 89609153807;

e-mail: egpolenok@mail.ru

Polenok Elena G. – PhD (Candidate of Pharmacy), Leading Researcher of Immunochemistry Laboratory of Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal chemistry SB RAS, 10, Leningradsky Avenue, Kemerovo, 650065, Russian Federation;

address: Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry SB RAS, 10, Leningradsky Avenue, Kemerovo, Russian Federation, 650065;

telephones: 8(3842)57-50-79; 89609153807;

e-mail: egpolenok@mail.ru

Блок 2. Информация об авторах

Глушков Андрей Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории иммуногенетики Института экологии человека, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук», 650065, г. Кемерово, пр-т Ленинградский, 10, Россия;

Glushkov Andrey N. – MD, Professor, Chief Researcher of Immunogenetics Laboratory, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal chemistry SB RAS, 10, Leningradsky Avenue, Kemerovo, 650065, Russian Federation;

Гордеева Людмила Александровна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммуногенетики Института экологии человека, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук», 650065, г. Кемерово, пр-т Ленинградский, 10, Россия;

Gordeeva Lyudmila A. – PhD (Candidate of Biology), Leading Researcher of Immunogenetics Laboratory of Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal chemistry SB RAS, 10, Leningradsky Avenue, Kemerovo, 650065, Russian Federation;

Студенников Артем Евгеньевич – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологии Института экологии человека, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук», 650065, г. Кемерово, пр-т Ленинградский, 10, Россия;

Studennikov Artem E. – PhD (Candidate of Biology), Leading Researcher of Biotechnology Laboratory of Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal chemistry SB RAS, 10, Leningradsky Avenue, Kemerovo, 650065, Russian Federation;

Елисейкин Алексей Михайлович – ведущий инженер-технолог лаборатории биотехнологии Института экологии человека, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук», 650065, г. Кемерово, пр-т Ленинградский, 10, Россия;

Eliseikin Alexsey M. – Lead Process Engineer of Biotechnology Laboratory of Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal chemistry SB RAS, 10, Leningradsky Avenue, Kemerovo, 650065, Russian Federation;

Костянко Михаил Владимирович – ведущий инженер кафедры органической химии Института фундаментальных наук ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», 650000, г. Кемерово, ул. Красная, 6, Россия;

Kostyanko Mikhail V. – Leading Engineer of the Organic Chemistry Chair, Institute of Fundamental Sciences, Kemerovo State University, 6, Krasnaya Street, Kemerovo, 650000, Russian Federation;

Захаров Вадим Николаевич – кандидат медицинских наук, главный врач, ГБУЗ «Кузбасский клинический онкологический диспансер им. М.С. Раппопорта», 650036, г. Кемерово, ул. Волгоградская, 35, Россия;

Zakharov Vadim N. – PhD (Candidate of Medicine), Main Physician of Kuzbass Clinical Oncology Dispensary, 35, Volgogradskaya Street, Kemerovo, 650036, Russian Federation;

Антонов Александр Витальевич – заведующий отделением опухолей молочной железы, ГБУЗ «Кузбасский клинический онкологический диспансер им. М.С. Раппопорта», 650036, г. Кемерово, ул. Волгоградская, 35, Россия;

Antonov Alexander V. – Chief of Breast Cancer Department, Kuzbass Clinical Oncology Dispensary, 35, Volgogradskaya Street, Kemerovo, 650036, Russian Federation;

Байрамов Павел Валерьевич – заведующий патологоанатомическим отделением, ГБУЗ «Кузбасский клинический онкологический диспансер им. М.С. Раппопорта», 650036, г. Кемерово, ул. Волгоградская, 35, Россия;

Bayramov Pavel V. – Main Physician of Patholoanatomical Department, Kuzbass Clinical Oncology Dispensary, 35, Volgogradskaya Street, Kemerovo, 650036, Russian Federation;

Вержибцкая Наталья Евгеньевна – кандидат медицинских наук, врач-патологоанатом, ГБУЗ «Кузбасский клинический онкологический диспансер им. М.С. Раппопорта», 650036, г. Кемерово, ул. Волгоградская, 35, Россия;

Verzhbitskaya Natalia E. – PhD (Candidate of Medicine), pathologist of Patholoanatomical Department, Kuzbass Clinical Oncology Dispensary, 35, Volgogradskaya Street, Kemerovo, 650036, Russian Federation;

Колпинский Глеб Иванович – доктор медицинских наук, профессор кафедры лучевой диагностики, лучевой терапии и онкологии, ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет», 650056, г. Кемерово, ул. Ворошилова, 22А; главный врач, ГАУЗ «Клинический консультативно-диагностический центр им. И.А. Колпинского», 650066, г. Кемерово, пр. Октябрьский, 53/1, Россия;

Kolpinckiy Gleb I. – MD, Professor of Department of Radiology, Radiotherapy and Oncology, Kemerovo State Medical University, 22A, Voroshilov Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation; Main Physician of Kemerovo Clinical Diagnostic Center, 53/1, Oktyabrsky Avenue, Kemerovo, 650066, Russian Federation;

Мун С.А. – к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории иммуногенетики Института экологии человека ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук», Кемерово, Россия;

Mun S.A., PhD (Medicine), Senior Research Associate, Immunogenetics Laboratory, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Kemerovo, Russian Federation.

Блок 3. Метаданные статьи

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ И ГОРМОН-СПЕЦИФИЧЕСКИХ АУТОАНТИТЕЛ В РЕГУЛЯЦИИ ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ОПУХОЛИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

INTERACTION OF STEROID HORMONES AND HORMONE-SPECIFIC AUTOANTIBODIES IN THE REGULATION OF TUMOR PROLIFERATIVE ACTIVITY IN BREAST CANCER PATIENTS

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

ГОРМОНЫ И АУТОАНТИТЕЛА ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
HORMONES AND ANTIBODIES IN BREAST CANCER PATIENTS

Ключевые слова: рак молочной железы, эстрадиол, прогестерон, бензо[а]пирен, антитела, Ki67.

Keywords: breast cancer, estradiol, progesterone, benzo[a]pyrene, antibodies, Ki67.

Оригинальные статьи.

Количество страниц текста – 10,

Количество таблиц – 3,

Количество рисунков – 2.

21.04.2025

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

№ п/п	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее DOI
1	Аутеншлюс А.И., Архипов С.А., Михайлова Е.С., Архипова В.В., Вараксин Н.А. Сопряженность цитокинового профиля супернатанта инвазивной карциномы молочной железы с ее молекулярными и гистопатологическими характеристиками // Сибирский онкологический журнал, 2023 – Т. 22, №6. – С. 92-102.	Autenshlyus A.I., Arkhipov S.A., Mikhaylova E.S., Arkhipova V.V., Varaksin N.A. Relationship between the cytokine profile of supernatants of invasive breast carcinoma and its molecular and histopathological characteristics. <i>Sibirskij onkologičeskij žurnal</i> = <i>Siberian Journal of Oncology</i> , 2023, Vol. 22, no. 6, pp. 92–102. (In Russ.)	doi: 10.21294/1814-4861-2023-22-6-92-102
2	Глушков А.Н. Клиническая иммунохимия канцерогенеза: новые задачи и перспективы. // Российский иммунологический журнал, 2013. – Т.7(16), №1. – С. 27-34.	Glushkov A.N., The immunochemistry on carcinogenesis: the new tasks and perspectives. <i>Rossiyskiy Immunologicheskij Zhurnal</i> = <i>Russian Journal of Immunology</i> , 2013. Vol. 7(16), no. 1, pp. 27-34. (In Russ.)	https://elibrary.ru/download/elibrary_19023468_51971566.pdf
3	Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Гордеева Л.А., Байрамов П.В., Вержбицкая Н.Е., Антонов А.В., Колпинский Г.И., Костянко М.В. Антитела и анти-антитела, специфичные к эстрадиолу и прогестерону, и пролиферативная активность опухоли у больных раком молочной железы. // Сибирский	Glushkov A.N., Polenok E.G., Gordeeva L.A., Bayramov P.V., Verzhbitskaya N.E., Antonov A.V., Kolpinsky G.I., Kostyanko M.V. Antibodies and anti-antibodies specific to estradiol and progesterone and tumor proliferation in breast cancer patients. <i>Sibirskij onkologičeskij žurnal</i> = <i>Siberian journal of</i>	doi: 10.21294/1814-4861-2024-23-3-73-85

	онкологический журнал, 2024. – Т.23, №3. – С. 73-85.	<i>oncology</i> , 2024, Vol. 23, no. 3, pp. 73-85 (In Russ.)	
4	Стрункин Д.Н., Конончук В.В., Гуляева Л.Ф., Богачев С.С., Проскурина А.С. Современные аспекты систематики, диагностики и лечения рака молочной железы. // Опухоли женской репродуктивной системы, 2022. – Т.18, №1. – С. 25-39.	Strunkin D.N., Kononchuk V.V., Gulyaeva L.F., Bogachev S.S., Proskurina A.S. Current aspects of systematics, diagnosis and treatment of breast cancer. <i>Opuholi zhenskoj reproduktivnoj sistemy</i> = <i>Tumors of female reproductive system</i> , 2022, Vol. 18, no. 1, pp. 25-39. (In Russ.)	doi: 10.17650/1994-4098-2022-18-1-25-39
5	Студеникина А.А., Михайлова Е.С., Архипов С.А., Вараксин Н.А., Проскура А.В., Аутеншлюс А.И. Биомаркеры крови и маркер пролиферации Ki-67 при раке молочной железы // Медицинская иммунология, 2023. – Т. 25, № 2. – С. 357-366.	Studenikina A.A., Mikhaylova E.S., Arkhipov S.A., Varaksin N.A., Proskura A.V., Autenshlyus A.I. Blood biomarkers and Ki-67 proliferation marker in breast cancer. <i>Meditinskaya Immunologiya</i> = <i>Medical Immunology</i> , 2023, Vol. 25, no. 2, pp. 357-366. (In Russ.)	[doi: 110.15789/1563-0625-BBA-2570]
6	Alluri P.G., Speers C., Chinnaiyan A.M. Estrogen receptor mutations and their role in breast cancer progression. <i>Breast Cancer Res.</i> , 2014, Vol. 16, no. 6, pp. 494-502.		doi: 10.1186/s13058-014-0494-7
7	Bochskanl R., Thie M., Kirchner C.J. Active immunization of rabbits against progesterone: increase in hormone levels, and changes in metabolic clearance rates and in genital tract tissues. <i>Steroid. Biochem.</i> , 1989, Vol.33, no. 3, pp. 349-355.		doi: 10.1016/0022-4731(89)90323-3

8	Borkowski A., Gyling M., Muquardt C., Body J.J., Leslercq G. Estrogen-like activity of a subpopulation of natural antiestrogen receptor autoantibodies in man. <i>Endocrinology</i> , 1991, Vol. 128, no.6, pp. 3283-3292.		doi: 10.1210/endo-128-6-3283
9	Caldwell B.V., Tillson S.A., Esber H., Thorneycroft I.H. Survival of tumors after immunization against oestrogens. <i>Nature</i> , 1971, Vol. 231, no. 5298, pp. 118-119.		doi: 10.1038/231118a0
10	Černohorská H., Klimešová S., Lepša L., Jinoch P., Milcová A., Schmuczerová J., Topinka J., Lábaj J. Influence of immunization with non-genotoxic PAH-KLH conjugates on the resistance of organisms exposed to benzo[a]pyrene. <i>Mut. Res.</i> , 2012, Vol. 742, no. 1-2, pp. 2-10.		doi: 10.1016/j.mrgentox.2011.10.016
11	Chagnaud J.L., Faiderbe S., Geffard M. Identification and immunochemical characterization of IgA in sera of patients with mammary tumors. <i>Int. J. Cancer.</i> , 1992, Vol. 50, no. 3, pp. 395-401.		doi: 10.1002/ijc.2910500312
12	Chaudhri R.A., Schwartz N., Elbaradie K., Schwartz Z., Boyan B.D. Role of ER α 36 in membrane-associated signaling by estrogen. <i>Steroids</i> , 2014, Vol. 81, pp. 74-80.		doi: 10.1016/j.steroids.2013.10.020

13	Chlebowski R.T., Rohan T.E., Manson J.E., Aragaki A.K., Kaunitz A., Stefanick M.L., Simon M.S., Johnson K.C., Wactawski-Wende J., O'Sullivan M.J., Adams-Campbell L.L., Nassir R., Lessin L.S., Prentice R.L. Breast Cancer After Use of Estrogen Plus Progestin and Estrogen Alone: Analyses of Data From 2 Women's Health Initiative Randomized Clinical Trials. <i>JAMA Oncol.</i> , 2015, Vol. 1, no. 3, pp. 296-305.		doi: 10.1001/jamaoncol.2015.0494
14	De Buck S.S., Augustijns P., Muller C.P. Specific antibody modulates absorptive transport and metabolic activation of benzo[a]pyrene across Caco-2 monolayers. <i>J. Pharmacol. Experim. Therap.</i> , 2005, Vol. 313, no. 2, pp. 640-646.		doi: 10.1124/jpet.104.081034
15	De Buck S.S., Augustijns P., Muller C.P. Specific antibody modulates absorptive transport and metabolic activation of benzo[a]pyrene across Caco-2 monolayers. <i>J. Pharmacol. Experim. Therap.</i> , 2005, Vol. 313, no. 2, pp. 640-646.		doi: 10.1124/jpet.104.081034
16	De Buck S.S., Schellenberger M.T., Enschede C., Muller C.P. Effects of antibodies induced by a conjugate vaccine on 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone absorptive transport, metabolism,		doi: 10.1002/ijc.25073

	and proliferation of human lung cells. <i>Int. J. Cancer</i> , 2010, Vol. 127, no. 3, pp. 513-520.		
17	De Buck S.S., Schellenberger M.T., Enschede C., Muller C.P. Effects of antibodies induced by a conjugate vaccine on 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone absorptive transport, metabolism, and proliferation of human lung cells. <i>Int. J. Cancer</i> , 2010, Vol. 127, no. 3, pp.513-520.		doi: 10.1002/ijc.25073
18	Elsaesser F. Effects of active immunization against oestradiol-17 beta, testosterone or progesterone on receptivity in the female rabbit and evaluation of specificity. <i>J. Reprod. Fertil.</i> , 1980, Vol. 58, no.1, pp. 213-218.		doi: 10.1530/jrf.0.0580213
19	Fowler A.M., Salem K., DeGrave M., Ong I.M., Rassman S., Powers G.L., Kumar M., Michel C.J., Mahajan A.M. Progesterone Receptor Gene Variants in Metastatic Estrogen Receptor Positive Breast Cancer. <i>Horm. Cancer</i> , 2020, Vol. 11, no. 2, pp. 63-75.		doi: 10.1007/s12672-020-00377-3
20	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., Hatch M., Kabat G.C., Wolff M.S., Levin B., Neugut		doi: 10.1080/00039890409602948

	A.I., Santella R.M. Polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts and breast cancer: a pooled analysis. <i>Arch. Environ. Health</i> , 2004, Vol. 59, no. 12, pp. 640-649.		
21	Girdhar A., Raju K., Prasad K. Association between interleukin 6 immunohistochemical and plasma levels in invasive ductal carcinoma breast: a cross-sectional study. <i>Biomed. Res. Ther.</i> , 2023, Vol. 10, no. 8, pp. 5843-5854.		doi: 10.15419/bmrat.v10i8.826
22	Glushkov A.N., Apalko S.V., Filipenko M.L., Matveeva V.A., Bakulina A.Yu., Lunin V.G., Kostyanko M.V. A Novel Approach to the Development of Anticarcinogenic Vaccines. <i>Acta naturae</i> , 2010, Vol. 2, no. 4(7), pp. 105-111.		https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22649670/
23	Glushkov A.N., Polenok E.G., Mun S.A., Gordeeva L.A. Immunization against environmental chemical carcinogens: pro and contra. <i>Medical Hypotheses</i> , 2019, Vol. 131, pp.109303.		doi: 10.1016/j.mehy.2019.109303]
24	Greiner M., Pfeiffer D., Smith R.D. Principles and practical application of the receiver operating characteristic analysis for diagnostic test. <i>Prev. Vet. Med.</i> , 2000, Vol. 45, pp. 23–41.		doi: 10.1016/S0167-5877(00)00115-X

25	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. <i>Vaccine</i> , 2009, Vol. 27, no. 31, pp. 4142-4151.		doi: 10.1016/j.vaccine.2009.04.052
26	Harrod A., Lai C.F., Goldsbrough I., Simmons G.M., Oppermans N., Santos D.B., Györfy B., Allsopp R.C., Toghill B.J., Balachandran K., Lawson M., Morrow C.J., Surakala M., Carnevali L.S., Zhang P., Guttery D.S., Shaw J.A., Coombes R.C., Buluwela L., Ali S. Genome engineering for estrogen receptor mutations reveals differential responses to anti-estrogens and new prognostic gene signatures for breast cancer. <i>Oncogene</i> , 2022, Vol. 41, no.44, pp. 4905-4915.		doi: 10.1038/s41388-022-02483-8.
27	Hirose T., Morito K., Kizu R., Toriba A., Hayakawa K., Ogawa S., Inoue S., Muramatsu M., Masamune Y. Estrogenic/antiestrogenic activities of benzo[a]pyrene monohydroxy derivatives. <i>J. Health Sci.</i> , 2001, Vol. 47, no. 6, pp. 552-558.		doi: 10.1248/jhs.47.552
28	Jerne N.K. Idiotypic networks and other preconceived ideas. <i>Immunol. Rev.</i> , 1984, Vol. 79, pp. 5-24.		doi: 10.1111/j.1600-065x.1984.tb00484.x

29	Kang S.C., Lee B.M. Effect of estrogen receptor (ER) on benzo[a]pyrene-DNA adduct formation in human breast cancer cells. <i>J. Toxicol. Environ. Health A.</i> , 2005, Vol. 68, no. 21, pp. 1833-1840.		doi: 10.1080/15287390500182883
30	Kong A.L., Pezzin L.E., Nattinger A.B. Identifying patterns of breast cancer care provided at high-volume hospitals: a classification and regression tree analysis. <i>Breast Cancer Res. Treat.</i> , 2015, Vol. 153, no. 3, pp. 689-698.		doi: 10.1007/s10549-015-3561-6
31	Li Z, Wei H., Li S., Wu P., Mao X. The Role of Progesterone Receptors in Breast Cancer. <i>Drug Des. Devel. Ther.</i> , 2022, Vol. 16, pp. 305-314.		doi: 10.2147/DDDT.S336643
32	Lin C.H., Zahid M., Kuo W.H., Hu F.C., Wang M.Y., Chen I.C., Beseler C.L., Mondal B., Lu Y.S., Rogan E.G., Cheng A.L. Estrogen-DNA Adducts and Breast Cancer Risk in Premenopausal Asian Women. <i>Cancer Prev. Res. (Phila)</i> , 2023, Vol. 16, no. 3, pp. 153-161.		doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-22-0415
33	Reding K.W., Han C.J., Whittington D., Zahid M., Rogan E.G., Langford D., Rohan T.E., Chlebowski R.T., Cheng T.D., Barrington W.E., Tinker L.F. Risk of Breast Cancer Associated with Estrogen DNA		doi: 10.1158/1055-9965.EPI-20-0133

	Adduct Biomarker. <i>Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.</i> , 2020, Vol. 29, no. 10, pp. 2096-2099.		
34	Rosenberg M., Amir D., Folman Y. The effect of active immunization against progesterone on plasma concentrations of total and free progesterone, estradiol-17beta and LH in the cyclic ewe. <i>Theriogenology</i> , 1987, Vol. 28, no. 4, pp. 417-426.		[doi: 10.1016/0093-691x(87)90246-9]
35	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. <i>Carcinogenesis</i> , 2000, Vol. 21, no. 7, pp. 1281-1289.		doi: 10.1093/carcin/21.7.1281
36	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. <i>Environ. Res.</i> , 2009, Vol. 109, no. 3, pp. 287-291.		doi: 10.1016/j.envres.2008.11.005
37	Sömjen D., Kohen F., Lieberherr M. Nongenomic effects of an anti-idiotypic antibody as an estrogen mimetic in female		doi: 10.1002/(SICI)1097-4644(199704)65:1<53::AID-JCB6>3.0.CO;2-Y

	human and rat osteoblasts. <i>J. Cell Biochem.</i> , 1997, Vol. 65, no.1, pp. 53-66.		
38	Spurgeon S.E., Hsieh Y.C., Rivadinera A., Beer T.M., Mori M., Garzotto M. Classification and regression tree analysis for the prediction of aggressive prostate cancer on biopsy. <i>J. Urol.</i> , 2006, Vol. 175, no. 3 Pt 1, pp. 918-922.		doi: 10.1016/S0022-5347(05)00353-8
39	Tassignon J., Haeseleer F., Borkowski A. Natural antiestrogen receptor autoantibodies in man with estrogenic activity in mammary carcinoma cell culture: study of their mechanism of action; evidence for involvement of estrogen-like epitopes. <i>J. Clin. Endocrinol. Metab.</i> , 1997, Vol. 82, no. 10, pp. 3464-3470.		doi: 10.1210/jcem.82.10.4313
40	Trabert B., Sherman M.E., Kannan N., Stanczyk F.Z. Progesterone and Breast Cancer. <i>Endocr. Rev.</i> , 2020, Vol. 41, no. 2, pp. 320-44.		doi: 10.1210/endrev/bnz001