

ИДИОТИПИЧЕСКИЕ И АНТИИДИОТИПИЧЕСКИЕ АНТИТЕЛА ПРОТИВ ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА КАК НОВЫЕ МАРКЕРЫ РАКА ЛЕГКОГО

© 2019 г. И. С. Гребенщиков*, А. Е. Студенников, А. Н. Глушков, В. А. Устинов

*E-mail: GrebenshchikovIS@ihe.sbras.ru

«Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН»,
Институт экологии человека, ФАНО России, Кемерово, Россия

Поступила: 13.03.2019. Принята: 25.03.2019

В нашей работе, при помощи прямого иммуноферментного анализа, был сделан анализ уровней идиотипических и антиидиотипических антител против полициклических ароматических углеводородов в сыворотке крови людей больных раком легкого и здоровых доноров. Было показано, что эти показатели антител между группами статистически достоверно отличаются. Основываясь на этих результатах, был разработан анализ для количественной оценки антител в сыворотке крови человека с помощью мультиплексного метода.

Ключевые слова: антитело, бензо[а]пирен, полициклические ароматические углеводороды, Bio-Plex 200, рак легкого

DOI: 10.31857/S102872210006581-4

Адрес: 650065 Кемерово, пр. Ленинградский, д. 10, «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН», Институт экологии человека, ФАНО России, лаборатория биотехнологии. Гребенщиков Иван Сергеевич.

Тел./факс: +7(3842) 363462.

E-mail: GrebenshchikovIS@ihe.sbras.ru

Авторы:

Гребенщиков И. С., аспирант, ведущий инженер-технолог лаборатории биотехнологии «Федерального исследовательского центра угля и углехимии СО РАН», Институт экологии человека, ФАНО России, Кемерово, Россия;

Студенников А. Е., ведущий инженер-технолог лаборатории биотехнологии «Федерального исследовательского центра угля и углехимии СО РАН», Институт экологии человека, ФАНО России, Кемерово, Россия;

Глушков А. Н., д.м.н, директор Института экологии человека «Федерального исследовательского центра угля и углехимии СО РАН», ФАНО России, Кемерово, Россия;

Устинов В. А., к.б.н., заведующий лабораторией биотехнологии «Федерального исследовательского центра угля и углехимии СО РАН», Институт экологии человека, ФАНО России, Кемерово, Россия.

Бензо[а]пирен (Бп) представляет собой один из канцерогенов первого класса опасности. При попадании в организм человека, аддукты этого вещества способны связываться с ДНК, белка-

ми и липидами, что может запускать и стимулировать развитие онкологических процессов [1].

Цель работы — анализ иммунного ответа на Бп у различных групп людей.

Для изучения идиотипических (At1) и антиидиотипических (At2) антител против Бп в сыворотке крови человека были сформированы группы, которые включали в себя: здоровых доноров (277 человек), больных раком легкого (557 человек) и доноров с повышенным фактором риска онкозаболеваний — работники угольного предприятия (52 человека).

Анализ At1 и At2 в сыворотке крови проводили при помощи прямого иммуноферментного анализа [2]. В лунках иммунологического планшета были иммобилизованы конъюгат Бп-БСА (для анализа At1 из сыворотки крови) и идиотипическое одноцепочечное мышинное At1 против Бп (для анализа At2 из сыворотки крови). Детекция At из сыворотки крови проводилась с использованием анти-IgG человека, меченных пероксидазой. На основании полученных данных, все доноры были распределены в группы с учетом возраста, пола и курения. Постро-

енная математическая модель логистической регрессии была проверена анализом случайных выборок здоровых людей и пациентов с раком легкого, а также группой работников угольного предприятия [3]. Анализ с высокой вероятностью подтвердил состояние здоровья испытуемых. При этом показатели шахтеров оказались в промежуточном положении (группа риска возникновения рака легкого).

Статистический анализ полученных результатов позволил сделать следующие выводы:

1) Наиболее эффективным для прогнозирования рака лёгкого выступил параметр соотношения Ат2/Ат1.

2) Уровни Ат1 и Ат2 у мужчин и женщин различались при прогнозировании рака легкого. Для мужчин значимое отличие между здоровыми и больными было по Ат2, у женщин – по Ат1.

3) Возраст испытуемых влиял на прогнозирование рака легкого моделью логистической регрессии наравне с предикторами: Ат1, Ат2 и полом.

4) Фактор курения влиял на уровни Ат1 и Ат2 и прогнозирование рака легкого только во взаимосвязи с полом и возрастом.

5) Предложенные маркеры определения рака легкого позволяют выявлять группы риска данного заболевания среди здоровых людей.

Разработка количественного анализа Ат1 и Ат2 против Бп в сыворотке крови человека ста-

ла следующим шагом нашей работы. Для этого были использованы одноцепочечные человеческие Ат1 и Ат2. Эти антитела были химическим путем связаны с магнитными микросферами. Анализ микросфер проходил при помощи мультиплексной системы Bio-Plex-200 [4]. Метод анализа продемонстрировал низкий коэффициент варируемости для каждой анализируемой сыворотки, высокий уровень специфичности и чувствительности.

Работа поддержана программой гос. задания № 0352-2019-0011.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Kim K. H., Jahan S. A., Kabir E., Brown R. J. A review of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their human health effects. *Environ Int.* 2013, 60, 71–80.
2. Ustinov V.A., Matveeva V.A., Kostyanko M.A., Glushkov A.N. Antibodies against benzo[a]pyrene in immunized mouse and in lung cancer patients. *Exp Oncol.* 2013, 35, 207–210.
3. Buratti M., Campo L., Fustinoni S., Cirila P.E., Martignotti I., Cavallo D., Foa V. Urinary hydroxylated metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons as biomarkers of exposure in asphalt workers. *Biomarkers.* 2007, 12(3), 221–239.
4. Zheng W, He L. Multiplexed Immunoassays. *Advanced Techniques in Immunoassays* published by Academic Press, 5 Penn Plaza, 19th Floor, New York, NY10001, USA, 2017, 143–164.

IDIOTYPIC AND ANTI-IDIOTYPIC ANTIBODIES AGAINST POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS IN HUMAN BLOOD SERUM ARE NEW BIOMARKERS OF LUNG CANCER

© 2019 I. S. Grebenschikov*, A. E. Studennikov, A. N. Glushkov, V. A. Ustinov

*E-mail: GrebenschikovIS@ihe.sbras.ru

Federal State Budget Scientific Institution «The Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences»,
Institute of Human Ecology, Kemerovo, Russia

Received: 15.03.2019. Accepted: 25.03.2019

We studied the levels of idiotypic and anti-idiotypic antibodies against benzo[a]pyrene in the blood serum of lung cancer patients and healthy donors by direct ELISA. It was shown that antibody levels between these groups was statistically significantly different. Based on these results, a quantify antibodies immunoassay in the human serum was developed using a multiplex method.

Key words: Antibody, polycyclic aromatic hydrocarbon, benzo[a]pyrene, Bio-Plex 200, lung cancer

Authors:

Grebenshchikov I. S., ✉ Graduate Student, Leading Technologist in the Laboratory of Biotechnology, Federal State Budget Scientific Institution 'The Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences', Institute of Human Ecology, Kemerovo, Russia. **E-mail:** GrebenshchikovIS@ihe.sbras.ru;

Studennikov A. E., Leading Technologist in the Laboratory of Biotechnology, Federal State Budget Scientific Institution 'The Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences', Institute of Human Ecology, Kemerovo, Russia;

Glushkov A. N., MD, Chef of the Institute of Human Ecology, Federal State Budget Scientific Institution 'The Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences', Kemerovo, Russia;

Ustinov V. A., PhD, Leader the Laboratory of Biotechnology, Federal State Budget Scientific Institution 'The Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences', Institute of Human Ecology, Kemerovo, Russia.