

АНТИТЕЛА И АНТИ-АНТИТЕЛА К СТЕРОИДНЫМ ГОРМОНАМ И РИСК РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Глушков А.Н.^{1,3}, Поленок Е.Г.¹, Костянко М.В.^{1,3}, Антонов А.В.²,
Вержбицкая Н.Е.⁴, Вафин И.А.⁵, Рагожина С.Е.⁵

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

² ГБУЗ КО «Областной клинический онкологический диспансер», г. Кемерово, Россия

³ ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», г. Кемерово, Россия

⁴ ГБУЗ КО ОТ «Кемеровское областное патологоанатомическое бюро», г. Кемерово, Россия

⁵ ГКУЗ КО «Кемеровский областной центр крови», г. Кемерово, Россия

Резюме. В экспериментах на животных показано, что антитела против стероидных гормонов способны модулировать их содержание в сыворотке крови и тем самым воздействовать на возникновение рака молочной железы (РМЖ). В свою очередь эффекты указанных антител могут изменяться под действием соответствующих антиидиотипических антител. Однако ассоциации антител и антиидиотипических антител с РМЖ у женщин остаются мало изученными.

Цель исследования — выявить возможные ассоциации антител к эстрадиолу и прогестерону (IgG-Es1 и IgG-Pg1) и соответствующих антиидиотипических антител (IgG-Es2 и IgG-Pg2) с РМЖ у женщин в постменопаузе.

Были обследованы 89 здоровых женщин и 273 больных РМЖ. Исследование IgG-Es1 и IgG-Pg1 в сыворотке крови выполняли с помощью неконкурентного иммуноферментного анализа с использованием конъюгатов Es и Pg с бычьим сывороточным альбумином в качестве антигенов. Исследование IgG-Es2 и IgG-Pg2 выполняли аналогичным методом с использованием моноклональных антител против Es и Pg в качестве антигенов.

Одновременное отсутствие IgG-Es1 и IgG-Pg1 имело место у 53,9% здоровых женщин и у 41,0% больных РМЖ ($p = 0,04$; $OR = 0,6$). Ig-Es1 без IgG-Pg1 и IgG-Pg1 без Ig-Es1 обнаружили у 15,7% и 20,2% здоровых женщин и у 10,3 и 7,7% больных РМЖ ($p > 0,05$). Одновременное повышение уровней исследуемых антител выявлено у 10,1% здоровых женщин и у 41,0% больных РМЖ ($p < 0,0001$; $OR = 5,3$). Отсутствие IgG-Es2 и IgG-Pg2 (одновременное и каждого по отдельности в присутствии другого) обнаруживали с одинаковой частотой в сравниваемых группах. Одновременное повышение уровней IgG-Es2 и IgG-Pg2 имело место у 52,8% здоровых женщин и у 34,8% больных РМЖ ($p = 0,03$; $OR = 0,4$).

Впервые обнаружены феномены синергизма в иммуностимуляции РМЖ при одновременном образовании IgG-Es1 и IgG-Pg1, а также синергизма в иммуноингибции РМЖ при одновременном образовании IgG-Es2 и IgG-Pg2. Показана высокая информативность иммуноанализа антител к стероидным гормонам для определения риска РМЖ у женщин в постменопаузе.

Ключевые слова: рак молочной железы, антитела, антиидиотипические антитела, эстрадиол, прогестерон, канцерогенез

Адрес для переписки:

Поленок Елена Геннадьевна
ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии» Сибирского отделения Российской академии наук
650065, Россия, г. Кемерово, Ленинградский пр., 10.
Тел./факс: 8 (3842) 57-50-79.
E-mail: egpolenok@mail.ru

Address for correspondence:

Polenok Elena G.
Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences
650065, Russian Federation, Kemerovo, Leningradsky ave, 10.
Phone/Fax: 7 (3842) 57-50-79.
E-mail: egpolenok@mail.ru

Образец цитирования:

А.Н. Глушков, Е.Г. Поленок, М.В. Костянко, А.В. Антонов, Н.Е. Вержбицкая, И.А. Вафин, С.Е. Рагожина «Антитела и анти-антитела к стероидным гормонам и риск рака молочной железы» // Медицинская иммунология, 2017. Т. 19, № 5. С. 577-584.
doi: 10.15789/1563-0625-2017-5-577-584

© Глушков А.Н. и соавт., 2017

For citation:

A.N. Glushkov, E.G. Polenok, M.V. Kostyanko, A.V. Antonov, N.E. Verzhbitskaya, I.A. Vafin, S.E. Ragozhina "Antibodies and anti-antibodies to steroid hormones, and breast cancer risk", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2017, Vol. 19, no. 5, pp. 577-584.
doi: 10.15789/1563-0625-2017-5-577-584

DOI: 10.15789/1563-0625-2017-5-577-584

ANTIBODIES AND ANTI-ANTIBODIES TO STEROID HORMONES, AND BREAST CANCER RISK

Glushkov A.N.^{a, c}, Polenok E.G.^a, Kostyanko M.V.^c, Antonov A.V.^b, Verzhbitskaya N.E.^d, Vafin I.A.^e, Ragozhina S.E.^e

^a Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Kemerovo, Russian Federation

^b Regional Dispensary for Clinical Oncology, Kemerovo, Russian Federation

^c Kemerovo State University, Kemerovo, Russian Federation

^d Pathologoanatomical Bureau, Kemerovo, Russian Federation

^e Regional Blood Center, Kemerovo, Russian Federation

Abstract. Antibodies against sex steroid hormones are known to modulate their serum concentration and inhibit experimental breast cancer (BC). Hence, these effects could be changed by according anti-idiotypic antibodies. However, relationships between antibodies and anti-idiotypic antibodies and BC in women are still poorly studied. The aim of this study was to identify possible associations between occurrence of antibodies against estradiol and progesterone (IgG-Es1 and IgG-Pg1) and according anti-idiotypic antibodies (IgG-Es2 and IgG-Pg2), and postmenopausal BC.

Eighty-nine healthy women and 273 BC patients were examined. A non-competitive solid phase immunoassay for IgG-Es1 and IgG-Pg1 was performed using estradiol and progesterone conjugates with bovin serum albumin as antigens. Monoclonal antibodies against Es and Pg as antigens have been used for non-competitive solid phase immunoassay of IgG-Es2 and IgG-Pg2.

Results: absence of both IgG-Es1 and IgG-Pg1 was revealed in 53.9% of healthy donors and 41.0% of BC patients ($p = 0.04$; OR = 0.6). Presence of IgG-Es1 without IgG-Pg1, or IgG-Pg1 without IgG-Es1 was detected for, respectively, 15.7% and 20.2% of healthy women, and in 10.3% and 7.7% of BC patients ($p > 0.05$). Simultaneous increase of both IgG-Es1 and IgG-Pg1 was revealed in 10.1% of healthy donors and in 41.0% of BC patients ($p < 0.0001$; OR = 5.3). Absence of a single antibody (IgG-Es2 or IgG-Pg2) showed similar frequency in the groups under study. Simultaneous increase of both IgG-Es2 and IgG-Pg2 was detected in 52.8% of healthy women and 34.8% of BC patients ($p = 0.03$; OR = 0.4). Conclusion: We have first revealed an immunostimulating synergistic effect of antibodies against sex steroid hormones and immunoinhibitory synergistic effect of appropriate anti-idiotypic antibodies upon the postmenopausal breast cancer risk.

Keywords: breast cancer, antibodies, anti-idiotypic antibodies, estradiol, progesterone, carcinogenesis

Работа выполнена в рамках проекта № VI.59.1.1. Программы фундаментальных научных исследований СО РАН.

Введение

Проблема доклинической диагностики рака молочной железы РМЖ в фазе инициации/промоции остается актуальной в связи с широким распространением этого заболевания и возможностью превентивной терапии селективными модуляторами эстрогеновых рецепторов, тамоксифеном и др. [4, 12, 18, 21]. Одним из маркеров повышенного риска РМЖ является глобулин, связывающий половые гормоны в сыворотке крови [8, 15, 22]. Такой же способностью обладают и антитела к эндогенным стероидам.

Известно, что уровни стероидных гормонов могут изменяться под влиянием специфических антител (АТ) после иммунизации животных [11, 16, 17, 20]. Иммунизация мышей против эстрадиола (Es) приводила к угнетению роста эстроген-зависимых опухолей [6]. Функции АТ к Es

и прогестерону (Pg) в патогенезе РМЖ у женщин остаются малоизученными. На основании результатов экспериментальных исследований [6] можно было бы предположить, что АТ против Es выполняют защитную роль и тормозят возникновение РМЖ. В таком случае их содержание в сыворотке крови больных должно быть меньше, чем у здоровых женщин. Однако в предыдущих работах обнаружено, что совместное образование АТ к Es, Pg и бензо[а]пирену ассоциировано с высоким риском РМЖ [3, 9]. Это может свидетельствовать о том, что указанные АТ стимулируют возникновение РМЖ.

Вместе с тем, в сыворотке крови здоровых женщин и больных РМЖ были обнаружены антиидиотипические АТ к Es [2]. Весьма вероятно, что и АТ к Pg индуцируют синтез соответствующих антиидиотипических АТ. Поэтому при дальнейшем изучении специфических иммунных реакций на стероидные гормоны при РМЖ необходимо учитывать совместные эффекты АТ и анти-АТ к стероидным гормонам.

Цель исследования — выявить предполагаемые ассоциации антител к эстрадиолу и прогестерону (IgG-Es1 и IgG-Pg1) и соответствующих анти-идиотипических антител (IgG-Es2 и IgG-Pg2) с РМЖ у женщин в постменопаузе.

Материалы и методы

В обследовании приняли участие 362 женщины в постменопаузе. В исследуемую группу были включены 273 женщины с диагнозом «инвазивная карцинома молочной железы», которые поступили на лечение в Областной клинический онкологический диспансер г. Кемерово. Диагноз рак молочной железы (РМЖ) в каждом случае был подтвержден морфологически. Средний возраст больных РМЖ составил $63,2 \pm 8,8$ года. В группу сравнения были включены 89 здоровых женщин без патологии молочной железы (средний возраст — $58,8 \pm 7,1$ лет). Забор периферической крови осуществлялся согласно этическим стандартам в соответствии с Хельсинской декларацией 1975 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 первых АТ к Es и Pg (IgG-Es1, IgG-Pg1) проводили с помощью неконкурентного иммуноферментного анализа в собственной модификации [1]. В качестве антигенов на полистирольные иммунологические планшеты были иммобилизованы конъюгаты Es и Pg с бычьим сывороточным альбумином (BSA). Конъюгат Es-BSA был синтезирован путем присоединения BSA к эстрадиолхинонам, полученным окислением Es солью Фреми. Конъюгат Pg-BSA был получен путем конъюгации гемиглутарата 21-гидроксипрогестерона и BSA карбодиимидным способом. Иммунологические планшеты сенсibilizировали в течение ночи при комнатной температуре. Образцы сыворотки крови в разведении 1:100 вносили по 100 мкл в лунки планшета в дублях, инкубировали 1 ч при 37 °C на шейкере. Связавшиеся АТ выявляли с помощью козьих АТ против IgG человека, меченных пероксидазой хрена (Novex, США), разведение конъюгата 1:10000. Регистрацию адсорбированных на планшете АТ проводили с помощью субстратного буфера, содержащего тетраметилбензидин (ТМБ, США), на фотометре (Пикон, Россия) при длине волны 450 нм. Уровни АТ выражали в относительных единицах и вычисляли по формуле:

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

где X = Es, Pg, $\text{OD}_{\text{X-BSA}}$ — связывание АТ с конъюгатом Es-BSA или Pg-BSA, OD_{BSA} — фоновое связывание с BSA.

Анализ антиидиотипических АТ к Es и Pg (IgG-Es2, IgG-Pg2) осуществляли на коммерческих

наборах «ИммуноФА-Эстрадиол», «ИммуноФА-ПГ» («Иммунотех», Москва) с иммобилизованными на пластике моноклональными АТ против Es и Pg согласно методике [1]. Уровни вторых АТ также выражали в относительных единицах и рассчитывали по отношению связывания сывороточных АТ с иммобилизованными на пластике АТ к Es и Pg (за вычетом фонового связывания с отрицательным контролем) к отрицательному контролю.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы Statistica 8.0 (StatSoft Inc., USA). Ненормальный характер распределения показателей выявили с помощью критерия Шапиро–Уилка, и в дальнейшем для выявления различий между группами использовали непараметрический критерий χ^2 с поправкой Йейтса на непрерывность вариации. При расчете критерия χ^2 исследуемые признаки группировались в четырехпольную таблицу (d.f. = 1). Для выявления пороговых значений уровней АТ (cut-off) был проведен ROC-анализ [10]. Ассоциации исследуемых АТ и анти-АТ с РМЖ оценивали на основании величины отношения шансов (OR) с доверительным интервалом (CI) при 95% уровне значимости.

Результаты

Ассоциации IgG-Es1 и IgG-Pg1 с РМЖ

С помощью ROC-анализа рассчитали пороговые значения (cut-off) уровней АТ к Es и Pg (IgG-Es1, IgG-Pg1), по которым здоровые женщины и больные РМЖ имели наиболее значимые различия. Такими оказались: для IgG-Es1 = 5, для IgG-Pg1 = 4. Затем по количеству (n) и частоте (%) обнаружения низких (\leq) и высоких ($>$) уровней АТ в сравниваемых группах рассчитали значение OR для каждого исследуемого АТ по отдельности и в 4 возможных комбинациях. Результаты представлены в таблице 1.

Обнаружили, что низкие уровни АТ к Es и Pg (IgG-Es \leq 5, IgG-Pg \leq 4) у больных РМЖ встречались значимо реже, чем у здоровых женщин. При этом значение OR были меньше 1. Высокие уровни АТ к Es и Pg (IgG-Es1 $>$ 5, IgG-Pg1 $>$ 4) у больных РМЖ встречались чаще, чем у здоровых. OR возрастали до 3,0 и до 2,2 соответственно.

Одновременное отсутствие или низкие уровни и IgG-Es1, и IgG-Pg1 (комбинация 1 в сравнении со всеми остальными случаями) у больных РМЖ обнаруживались реже, чем у здоровых с OR $<$ 1. Ассоциация исследуемых АТ с РМЖ в комбинациях 2-4 рассчитывали путем их сопоставления с частотой комбинации 1. Не выявили статистически значимых различий между сравниваемыми группами по частоте только высоких уровней АТ к Es (IgG-Es1 $>$ 5) при одновременно низких уровнях АТ к Pg (IgG-Pg1 \leq 4) (комбинация 2)

ТАБЛИЦА 1. КОЛИЧЕСТВО СЛУЧАЕВ (N) И ЧАСТОТА (%) ОБНАРУЖЕНИЯ НИЗКИХ (\leq) И ВЫСОКИХ ($>$) УРОВНЕЙ АНТИТЕЛ К ЭСТРАДИОЛУ И ПРОГЕСТЕРОНУ (IgG-Es1, IgG-Pg1) ОТДЕЛЬНО И В КОМБИНАЦИЯХ У ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН И БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (РМЖ)

TABLE 1. NUMBER OF CASES (N) AND FREQUENCY (%) OF LOW (\leq) AND HIGH ($>$) LEVELS OF ANTIBODIES TO ESTRADIOL AND PROGESTERONE (IgG-Es1, IgG-Pg1), WITH RESPECT TO EITHER SEPARATE OR COMBINED EFFECTS IN HEALTHY WOMEN AND BREAST CANCER (BC) PATIENTS

Антитела и их комбинации Antibodies and their combinations	Здоровые женщины Healthy women (N = 89)	Больные РМЖ Breast cancer patients (N = 273)	χ^2 (p)	OR (95%CI)
	n/%	n/%		
IgG-Es1 \leq 5 $>$ 5	66/74,2 23/25,8	133/48,7 140/51,3	16,5 (< 0,0001)	0,3 (0,2-0,6) 3,0 (1,8-5,1)
IgG-Pg1 \leq 4 $>$ 4	62/69,7 27/30,3	140/51,3 133/48,7	8,5 (0,004)	0,5 (0,3-0,8) 2,2 (1,3-3,6)
1. IgG-Es1 \leq 5 IgG-Pg1 \leq 4	48/53,9	112/41,0	4,03 (0,04)	0,6 (0,4-0,9)
2. IgG-Es1 $>$ 5 IgG-Pg1 \leq 4	14/15,7	28/10,3	0,1 (0,82)	
3. IgG-Es1 \leq 5 IgG-Pg1 $>$ 4	18/20,2	21/7,7	3,0 (0,08)	
4. IgG-Es1 $>$ 5 IgG-Pg1 $>$ 4	9/10,1	112/41,0	20,3 (< 0,0001)	5,3 (2,5-11,4)
χ^2 (p) 2-4 χ^2 (p) 3-4	15,2 (0,0001) 28,8 (< 0,0001)			

Примечание. Пороговое значение для антител к эстрадиолу IgG-Es1 = 5, для антител к прогестерону IgG-Pg1 = 4.

Note. Threshold values for IgG-Es1 antibodies to estradiol are 5; for antibodies to progesterone IgG-Pg1, are equal to 4.

и только высоких уровнях АТ к Pg (IgG-Pg1 $>$ 4) при одновременно низких уровнях АТ к Es (IgG-Es1 \leq 5) (комбинация 3), хотя в этих случаях имели место тенденции к снижению частоты их обнаружения у больных РМЖ. Одновременное повышение уровней и АТ к Es (IgG-Es1 $>$ 5), и АТ к Pg (IgG-Pg1 $>$ 4) (комбинация 4) обнаружено значительно чаще у больных РМЖ, чем у здоровых женщин ($p < 0,0001$). При этом значение OR возрастало до 5,3. Между каждой из 2 и 3 комбинаций с одной стороны и комбинацией 4 с другой стороны имела место высокая статистически значимая разница в сравниваемых группах ($p < 0,0001$).

Таким образом, заключение о низком или высоком риске РМЖ при низких или высоких уровнях только АТ к Es (IgG-Es1) или только АТ к Pg (IgG-Pg1) может оказаться ложным. Поэтому лишь одновременное снижение или повышение уровней исследуемых АТ может служить основанием для оценки риска РМЖ.

Ассоциации IgG-Es2 и IgG-Pg2 с РМЖ

Согласно ROC-анализу пороговыми значениями (cut-off) уровней антиидиотипических АТ к Es и Pg (IgG-Es2, IgG-Pg2) между сравниваемыми группами оказались: для IgG-Es2 = 3, для IgG-Pg2 = 3. Статистически значимых раз-

личий по частоте обнаружения высоких ($>$ 3) и низких (\leq 3) уровней анти-АТ к Es (IgG-Es2) между здоровыми женщинами и больными РМЖ не обнаружено (табл. 2). Низкие уровни анти-АТ к Pg (IgG-Pg2 \leq 3) у больных РМЖ выявлялись статистически значимо чаще, чем у здоровых ($p = 0,004$). При этом OR составил 2,3. Соответственно, высокие уровни анти-АТ к Pg (IgG-Pg2 $>$ 3) реже встречались у больных РМЖ, чем у здоровых. При этом OR снижался до 0,4.

Одновременно низкие уровни анти-АТ к Es и Pg (IgG-Es2 \leq 3, IgG-Pg2 \leq 3) (комбинация 1) у больных РМЖ выявлялись чаще, чем у здоровых женщин, но эти различия оказались статистически не значимы ($p > 0,05$). Высокие уровни только анти-АТ к Es (IgG-Es2 $>$ 3) при низких уровнях анти-АТ к Pg (IgG-Pg2 $>$ 3) (комбинация 2) встречались чаще у больных РМЖ, чем у здоровых женщин, но эти различия тоже были статистически не значимы ($p > 0,05$). Не выявили различий по частоте обнаружения только высоких уровней анти-АТ к Es (IgG-Es2 $>$ 3) при низких анти-АТ к Pg (IgG-Pg2 \leq 3) (комбинация 3). Вместе с тем одновременно повышенные уровни анти-АТ к Es и Pg (IgG-Es2 $>$ 3 и IgG-Pg2 $>$ 3) (комбинация 4) у больных РМЖ выявлялись ста-

ТАБЛИЦА 2. КОЛИЧЕСТВО СЛУЧАЕВ (N) И ЧАСТОТА (%) ОБНАРУЖЕНИЯ НИЗКИХ (\leq) И ВЫСОКИХ ($>$) УРОВНЕЙ АНТИИДИОТИПИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ К ЭСТРАДИОЛУ И ПРОГЕСТЕРОНУ (IgG-Es2 и IgG-Pg2) ОТДЕЛЬНО И В КОМБИНАЦИЯХ У ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН И БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (РМЖ)

TABLE 2. NUMBER OF CASES (N) AND FREQUENCY (%) OF LOW (\leq) AND HIGH ($>$) LEVELS OF ANTI-IDIOTYPIC ANTIBODIES TO ESTRADIOL (IgG-Es2) AND PROGESTERONE (IgG-Pg2), EITHER SEPARATELY, OR IN COMBINED IN HEALTHY WOMEN, OR BREAST CANCER (BC) PATIENTS

Антитела и их комбинации Antibodies and their combinations	Здоровые женщины Healthy women (N = 89)	Больные РМЖ Breast cancer patients (N = 273)	χ^2 (p)	OR (95%CI)
	n/%	n/%		
IgG-Es2 \leq 3 $>$ 3	31/34,8 58/65,2	116/42,5 157/57,5	1,3 (0,25)	
IgG-Pg2 \leq 3 $>$ 3	20/22,5 69/77,5	109/39,9 164/60,1	8,2 (0,004)	2,3 (1,3-3,9) 0,4 (0,3-0,8)
1. IgG-Es2 \leq 3 IgG-Pg2 \leq 3	9/10,1	47/17,2	2,1 (0,15)	
2. IgG-Es2 $>$ 3 IgG-Pg2 \leq 3	11/12,4	62/22,7	0,01 (0,93)	
3. IgG-Es2 \leq 3 IgG-Pg2 $>$ 3	22/24,7	69/25,3	0,9 (0,34)	
4. IgG-Es2 $>$ 3 IgG-Pg2 $>$ 3	47/52,8	95/34,8	4,9 (0,03)	0,4 (0,2-0,9)
χ^2 (p) 2-4 χ^2 (p) 3-4	7,1 (0,008) 1,7 (0,19)			

Примечание. Пороговое значение для анти-антител к эстрадиолу IgG-Es2 = 3, для анти-антител к прогестерону IgG-Pg2 = 3.

Note. Threshold values are equal to 3 for anti-antibodies to estradiol IgG-Es2, and 3, for anti-antibodies to progesterone IgG-Pg2.

статистически значимо реже, чем у здоровых женщин ($p = 0,03$). При этом OR снижался до 0,4. Между частотами обнаружения комбинаций 2 и 4 в сравниваемых группах выявлена статистически значимая разница ($p = 0,008$).

Таким образом, каждые из исследуемых антиидиотипических АТ по отдельности не были ассоциированы с РМЖ. Одновременное повышение уровней анти-АТ к Es и Pg сопряжено со снижением риска РМЖ.

Соотношение уровней антител и анти-антител к Es и Pg у здоровых женщин и больных РМЖ

Поскольку ассоциации АТ и анти-АТ к Es и Pg с РМЖ оказались разнонаправленными, посчитали целесообразным ввести интеграционный показатель их взаимосвязи с этим заболеванием. Поэтому рассчитали индивидуальные соотношения уровней первых АТ и анти-АТ к Es и Pg (IgG-Es1/Es2 и IgG-Pg1/Pg2) и их пороговые значения (cut-off), по которым различались сравниваемые группы. Для IgG-Es1/Es2 и IgG-Pg1/Pg2 эти значения составили 1,5. В таблице 3 приведены результаты сравнения здоровых женщин и больных РМЖ по рассчитанным соотношениям и их комбинациям.

Выяснилось, что превышение уровня АТ к Es (IgG-Es1) над уровнем анти-АТ к Es (IgG-Es2) в 1,5 раза чаще встречалось у больных РМЖ по сравнению со здоровыми женщинами ($p < 0,0001$). При этом OR возрастал до 2,9. Если это соотношение было $\leq 1,5$, OR снижался до 0,3. Аналогичная закономерность обнаружена при анализе соотношений АТ и анти-АТ к Pg (IgG-Pg1/Pg2) с OR = 1,9 и OR = 0,5 соответственно.

Одновременно низкие значения соотношений АТ и анти-АТ к Es и Pg (IgG-Es1/Es2 $\leq 1,5$ и IgG-Pg1/Pg2 $\leq 1,5$) (комбинация 1) у больных РМЖ встречались статистически значимо реже, чем у здоровых женщин ($p = 0,009$). При этом OR = 0,5. Если соотношение АТ и анти-АТ к Es (IgG-Es1/Es2) было $> 1,5$ при одновременном соотношении АТ и анти-АТ к Pg (IgG-Pg1/Pg2) $\leq 1,5$ (комбинация 2), разницы между сравниваемыми группами не было. Повышенные соотношения АТ и анти-АТ к Pg (IgG-Pg1/Pg2 $> 1,5$) при одновременно низких соотношениях АТ и анти-АТ к Es (IgG-Es1/Es2 $\leq 1,5$) у больных РМЖ обнаруживали реже, чем у здоровых женщин, но эти различия были статистически не значимы ($p > 0,05$). Одновременно высокие значения указанных соотношений (комбинация 4) у больных

ТАБЛИЦА 3. КОЛИЧЕСТВО СЛУЧАЕВ (N) И ЧАСТОТА (%) ОБНАРУЖЕНИЯ НИЗКИХ (\leq) И ВЫСОКИХ ($>$) ЗНАЧЕНИЙ СООТНОШЕНИЯ УРОВНЕЙ АНТИТЕЛ И АНТИИДИОТИПИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ К ЭСТРАДИОЛУ И ПРОГЕСТЕРОНУ (IgG-Es1/Es2 И IgG-Pg1/Pg2) ОТДЕЛЬНО И В КОМБИНАЦИЯХ У ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН И БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (РМЖ)

TABLE 3. NUMBER OF CASES (N) AND FREQUENCY (%) FOR LOW (\leq) AND HIGH ($>$) LEVELS OF RATIOS FOR ANTIBODIES AND ANTI-IDIOTYPIC ANTIBODIES LEVELS TO ESTRADIOL AND PROGESTERONE (IgG-Es1/Es2, IgG-Pg1/Pg2) SINGLY AND IN COMBINATIONS AT THE HEALTHY WOMEN AND BREAST CANCER (BC) PATIENTS

Соотношения антител/ анти-антител и их комбинации Ratio of antibodies/ anti-antibodies and their combinations	Здоровые женщины Healthy women (N = 89)	Больные РМЖ Breast cancer patients (N = 273)	χ^2 (p)	OR (95%CI)
	n/%	n/%		
IgG-Es1/Es2 \leq 1,5 $>$ 1,5	61/68,5 28/31,5	116/42,5 157/57,5	17,2 (< 0,0001)	0,3 (0,2-0,6) 2,9 (1,8-4,9)
IgG-Pg1/Pg2 \leq 1,5 $>$ 1,5	66/74,2 23/25,8	161/59,0 112/41,0	5,9 (0,01)	0,5 (0,3-0,8) 1,9 (1,2-3,4)
1. IgG-Es1/Es2 \leq 1,5 IgG-Pg1/Pg2 \leq 1,5	45/50,6	94/34,4	6,7 (0,009)	0,5 (0,3-0,8)
2. IgG-Es1/Es2 $>$ 1,5 IgG-Pg1/Pg2 \leq 1,5	21/23,6	67/24,5	1,5 (0,22)	
3. IgG-Es1/Es2 \leq 1,5 IgG-Pg1/Pg2 $>$ 1,5	16/18,0	22/8,1	0,9 (0,35)	
4. IgG-Es1/Es2 $>$ 1,5 IgG-Pg1/Pg2 $>$ 1,5	7/7,9	90/33,0	19,6 (< 0,0001)	6,2 (2,6-14,4)
χ^2 (p) 2-4 χ^2 (p) 3-4	8,7 (0,003) 21,1 (< 0,0001)			

Примечание. Пороговое значение для соотношения антител и анти-антител к эстрадиолу IgG-Es1/Es2 = 1,5, для соотношения антител и анти-антител к прогестерону IgG-Pg1/Pg2 = 1,5.

Note. Threshold values for ratio of antibodies/anti-antibodies to estradiol IgG, Es1/Es2 is equal to 1.5; for ratio of antibodies/anti-antibodies to progesterone IgG, Pg1/Pg2 = 1.5.

РМЖ выявлялись чаще, чем у здоровых женщин ($p < 0,0001$). При этом OR возрастал до 6,2. Между каждой из 2 и 3 комбинаций с одной стороны и комбинацией 4 с другой стороны имела место высокая статистическая разница ($p = 0,003$ и $p < 0,0001$ соответственно), что подтверждает результаты, приведенные в таблицах 1 и 2.

Обсуждение

В настоящей работе выяснилось, что АТ против стероидных гормонов ассоциированы с высоким риском РМЖ, в то время как соответствующие антиидиотипические АТ — с низким риском. Механизмы обнаруженных эффектов остаются не раскрытыми. По аналогии с модельными экспериментами на животных [5, 6, 11, 16, 17, 20] можно предположить, что IgG-Es1 и IgG-Pg1 способны изменять содержание Es и Pg в сыворотке крови и влияние последних на клетки мишени, т.е. стимулировать процессы промощии.

При этом появление в сыворотке крови АТ против стероидных гормонов индуцирует синтез

соответствующих антиидиотипических АТ. Последние ассоциированы с низким риском РМЖ. Очевидно, IgG-Es2 и IgG-Pg2 конкурируют с Es и Pg за связывание с Ig-Es1 и IgG-Pg1 и тем самым модулируют их эффекты на содержание этих гормонов в сыворотке крови. Кроме того, не исключено, что анти-АТ взаимодействуют с мембранными рецепторами гормонов и могут блокировать их взаимодействие с гормонами или выступать в роли агонистов или антагонистов Es и Pg, как это показано в экспериментальных исследованиях [7, 13, 19].

Особый интерес вызывает то, что описанные эффекты имеют место только при совместном образовании исследуемых АТ. Так, Ig-Es1 без IgG-Pg1 и IgG-Pg1 без Ig-Es1 встречаются реже у больных РМЖ, чем у здоровых женщин, т.е. проявляют тенденции к снижению рисков РМЖ. В то время как повышение их уровней в одном образце сыворотки крови у больных РМЖ выявляется значительно чаще, чем у здоровых, с возрастанием OR до 5,3. IgG-Es2 без IgG-Pg2 у боль-

ных РМЖ встречаются чаще, чем у здоровых, т.е. проявляет тенденцию к увеличению риска РМЖ. Частота обнаружения IgG-Pg2 без IgG-Es2 сопоставима в сравниваемых группах. В то время как совместное их образование наблюдается значительно реже у больных РМЖ, чем у здоровых, со снижением OR до 0,4.

Представляется целесообразным дальнейшее изучение механизмов синергических эффектов АТ и анти-АТ к стероидным гормонам при канцерогенезе в эксперименте и при различных опухолях человека. Прикладное значение полученных результатов заключается в возможности использования иммуноанализа АТ к стероидным гормонам в определении риска РМЖ. Ранее при изучении глобулина, связывающего половые гормоны, ассоциации с РМЖ либо не были выявлены [14], либо обнаружена негативная ассоциация с OR = 0,5 ($p < 0,001$) [22]. В настоящей работе низкие значения соотношений АТ и анти-

АТ к Es и Pg ассоциировано с низким риском РМЖ (OR = 0,5 95%CI: 0,3-0,8; $p = 0,009$), а высокие значения указанных соотношений — с высоким риском РМЖ (OR = 6,2 95%CI: 2,6-14,4; $p < 0,0001$). Дальнейшие исследования в этом направлении на больших выборках позволят уточнить информационную ценность комплексного иммуноанализа АТ к стероидным гормонам для определения риска РМЖ и, возможно, других гормонозависимых опухолей человека.

Благодарности

Авторы благодарят академика Л.Н. Иванову за содействие в развитии выбранного направления исследований; сотрудников лаборатории иммунохимии Института экологии человека ФИЦ УУХ СО РАН Аносову Т.П., Аносова М.П., Красильникову К.С., Гурова Е.А. за техническую поддержку настоящей работы.

Список литературы / References

1. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Аносова Т.П., Савченко Я.А., Баканова М.Л., Минина В.И., Мун С.А., Ларин С.А., Костянко М.В. Сывороточные антитела к бензо[а]пирену и хромосомные aberrации в лимфоцитах периферической крови у рабочих углеперерабатывающего предприятия // Российский иммунологический журнал, 2011. Т. 5 (14), № 1. С. 39-44. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Anosova T.P., Savchenko Ya.A., Bakanova M.L., Minina V.I., Mun S.A., Larin S.A., Kostyanko M.V. Serum antibodies to benzo[a]pyrene and chromosomal aberrations in lymphocytes peripheral blood at the workers of coal processing enterprise. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2011, Vol. 5 (14), no. 1, pp. 39-44. (In Russ.)]
2. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Костянко М.В., Антонов А.В., Вержбицкая Н.Е., Вафин И.А., Рагожина С.Е. Ассоциации сывороточных антител к эстрадиолу с рецепторами эстрогенов в опухоли у больных раком молочной железы // Российский иммунологический журнал, 2016. Т. 10 (19), № 2. С. 166-173. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Kostyanko M.V., Antonov A.V., Verzhbitskaya N.E., Vafin I.A., Ragozhina S.E. Associations of the serum antibodies to estradiol and the tumor estrogen receptors at the breast cancer patients. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2016, Vol. 10 (19), no. 2, pp. 166-173. (In Russ.)]
3. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Магарилл Ю.А., Аносова Т.П., Антонов А.В., Вержбицкая Н.Е. Антитела к бензо[а]пирену, эстрадиолу и прогестерону у больных раком молочной железы в постменопаузе // Сибирский онкологический журнал, 2016. Т. 15, № 6. С. 28-34. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Magarill Yu.A., Anosova T.P., Antonov A.V., Verzhbitskaya N.E. Antibodies to benzo[a]pyrene, estradiol and progesterone in the postmenopausal breast cancer women. *Sibirskiy onkologicheskiy zhurnal = Siberian Journal of Oncology*, 2016, Vol. 15, no. 6, pp. 28-34. (In Russ.)]
4. Bao T., Prowell T., Stearns V. Chemoprevention of breast cancer: tamoxifen, raloxifene, and beyond. *Am. J. Ther.*, 2006, Vol. 13, no. 4, pp. 337-348.
5. Bourtourault M., Shacoori V., Guerin J., Saiag B., Rault B. Effects of simultaneous active immunization against 17 beta-estradiol and testosterone on pituitary and ovarian activity in rat. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 1991, Vol. 72, no. 3, pp. 273-284.
6. Caldwell B.V., Tillson S.A., Esber H., Thorneycroft I.H. Survival of tumors after immunization against estrogens. *Nature*, 1971, Vol. 231, no. 14, pp. 118-119.
7. Chaudhri R.A., Olivares-Navarrete R., Cuenca N., Hadadi A., Boyan B.D., Schwartz Z. Membrane estrogen signaling enhances tumorigenesis and metastatic potential of breast cancer cells via estrogen receptor- α 36 (ER α 36). *J. Biol. Chem.*, 2012, Vol. 287, no. 10, pp. 7169-7181.
8. Fortunati N., Catalano M.G., Boccuzzi G., Frairia R. Sex Hormone-Binding Globulin (SHBG), estradiol and breast cancer. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2010, Vol. 316, no. 1, pp. 86-92.
9. 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, Vol. 9 (2), e4212. doi: 10.17795/ijcp-4212.
10. Hajian-Tilaki K. Receiver Operating Characteristic (ROC) Curve Analysis for Medical Diagnostic Test Evaluation. *Caspian J. Intern. Med.*, 2013, Vol. 4, no. 2, pp. 627-635.
11. 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, Vol. 6, no. 3-4, pp. 529-535.

12. LaCroix A.Z., Powles T., Osborne C.K., Wolter K., Thompson J.R., Thompson D.D., Allred D.C., Armstrong R., Cummings S.R., Eastell R., Ensrud K.E., Goss P., Lee A., Neven P., Reid D.M., Curto M., Vukicevic S., PEARL Investigators. Breast cancer incidence in the randomized PEARL trial of lasofoxifene in postmenopausal osteoporotic women. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2010, Vol. 102, no. 22, pp. 1706-1715.
13. Luconi M., Francavilla F., Porazzi I., Macerola B., Forti G., Baldi F. Human spermatozoa as a model for studying membrane receptors mediating rapid non-genomic effects of progesterone and estrogens. *Steroids*, 2004, Vol. 69, no. 8-9, pp. 553-559.
14. Manjer J., Johansson R., Berglund G., Janzon L., Kaaks R., Agren A., Lenner P. Postmenopausal breast cancer risk in relation to sex steroid hormones, prolactin and SHBG (Sweden). *Cancer Causes Control*, 2003, Vol. 14, no. 7, pp. 599-607.
15. Naik S.L.D., Hedau S., Bahadur A.K., Saha R., Kaur S., Ray A. Sex hormone binding globulin in breast cancer. *Indian J. Clin. Biochem.*, 2008, Vol. 23, no. 3, pp. 250-254.
16. Rawlings N.C., Kennedy S.W., Henricks D.M. The active immunization of the cyclic ewe against an estrone protein conjugate. *Theriogenology*, 1979, Vol. 12, no. 3, pp. 139-151.
17. 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, Vol. 6, no. 3-4, pp. 541-545.
18. Sestak I. Preventative therapies for healthy women at high risk of breast cancer. *Cancer Manag. Res.*, 2014, Vol. 6, pp. 423-430.
19. Somjen D., Kohen F., Lieberherr M. Nongenomic Effects of an anti-idiotypic antibody as an estrogen mimetic in female human and rat osteoblasts. *J. Cell. Biochem.*, 1997, Vol. 65, no. 1, pp. 53-66.
20. Sundaram K., Tsong Y.Y., Hood W., Brinson A. Effect of immunization with estrone-protein conjugate in rhesus monkeys. *Endocrinology*, 1973, Vol. 93, no. 4, pp. 843-847.
21. Vogel V.G. Role of hormones in cancer prevention. *Am. Soc. Clin. Oncol. Educ. Book*, 2014, pp. 34-40.
22. Zeleniuch-Jacquotte A., Shore R.E., Koenig K.L., Akhmedkhanov A., Afanasyeva Y., Kato I., Kim M.Y., Rinaldi S., Kaaks R., Toniolo P. Postmenopausal levels of estrogen, androgen and SHBG and breast cancer: long-term results of a prospective study. *Brit. J. Cancer*, 2004, Vol. 90, no. 1, pp. 153-159.

Авторы:

Глушков А.Н. — д.м.н., профессор, директор Института экологии человека ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии» Сибирского отделения Российской академии наук; профессор кафедры генетики биологического факультета ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», г. Кемерово, Россия

Поленок Е.Г. — к.фарм.н., заведующая лабораторией иммунохимии Института экологии человека ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии» Сибирского отделения Российской академии наук, г. Кемерово, Россия

Костянко М.В. — ведущий инженер кафедры органической химии химического факультета ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», г. Кемерово, Россия

Антонов А.В. — заведующий маммологическим отделением ГБУЗ КО «Областной клинический онкологический диспансер», г. Кемерово, Россия

Верзбицкая Н.Е. — к.м.н., заведующая патологоанатомическим отделением ГБУЗ КО ОТ «Кемеровское областное патологоанатомическое бюро», г. Кемерово, Россия

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

Рагожина С.Е. — заместитель главного врача по медицинской части ГКУЗ КО «Кемеровский областной центр крови», г. Кемерово, Россия.

Authors:

Glushkov A.N., PhD, MD (Medicine), Professor, Director, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences; Professor, Department of Genetics, Faculty of Biology, Kemerovo State University, Kemerovo, Russian Federation

Polenok E.G., PhD (Pharmacy), Chief, Laboratory of Immunochemistry, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Kemerovo, Russian Federation

Kostyanko M.V., Leading Engineer, Department of Organic Chemistry, Faculty of Chemistry, Kemerovo State University, Kemerovo, Russian Federation

Antonov A.V., Chief, Mammology Department, Regional Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russian Federation

Verzhbitskaya N.E., PhD (Medicine), Chief, Department of Pathology, Regional Pathologoanatomical Bureau, Kemerovo, Russian Federation

Vafin I.A., Physician-in-Chief, Regional Blood Center, Kemerovo, Russian Federation

Ragozhina S.E., Medical Director, Regional Blood Center, Kemerovo, Russian Federation

Поступила 13.01.2017

Отправлена на доработку 26.01.2017

Принята к печати 27.02.2017

Received 13.01.2017

Revision received 26.01.2017

Accepted 27.02.2017