

## **ЦИТОКИНПРОДУЦИРУЮЩИЙ РЕСУРС ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК КРОВИ ПРИ ОПУХОЛЯХ И ПРЕДРАКОВЫХ ИЗМЕНЕНИЯХ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

**Михайлова Е.С.<sup>1,2</sup>, Вараксин Н.А.<sup>3</sup>, Архипов С.А.<sup>1,2</sup>, Голованова А.В.<sup>1</sup>,  
Студеникина А.А.<sup>1</sup>, Аутеншлюс А.И.<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет», г. Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики», г. Новосибирск, Россия

<sup>3</sup> АО «Вектор-Бест», г. Новосибирск, Россия

**Резюме.** В настоящее время в группу предраковых поражений протоков молочной железы, согласно Международному агентству по изучению рака, включена только протоковая карцинома *in situ*. Однако, исходя из данных литературы, помимо протоковой карциномы *in situ*, к предраковым изменениям можно отнести склерозирующий аденоз, внутрипротоковые пролиферативные поражения и радиальный рубец. Многообразие как доброкачественных, так и злокачественных процессов в молочной железе, особенности роста новообразований и возраст пациентов требуют новых подходов к изучению процесса канцерогенеза в молочной железе. Исходя из известной роли цитокинов в патогенезе злокачественных новообразований, целью исследования явилась оценка цитокинпродуцирующего ресурса иммунокомпетентных клеток крови при злокачественных, доброкачественных заболеваниях и предраковых изменениях молочной железы. Для оценки цитокинпродуцирующего ресурса иммунокомпетентных клеток крови пациентов изучали индекс влияния поликлональных активаторов на продукцию цитокинов иммунокомпетентными клетками крови пациентов с инвазивным протоковым раком, являющимся по гистологическому типу аденокарциномой (I группа), и пациентов с незлокачественными новообразованиями молочной железы (II группа). В дальнейшем пациенты с незлокачественными новообразованиями молочной железы были разделены на группу только с фиброаденомой и мастопатией (III группа) и на группу, в которую вошли пациенты с предраковыми заболеваниями – склерозирующим аденозом и межпротоковыми пролифератами (IV группа). С помощью твердофазного иммуноферментного анализа определяли концентрацию IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IL-18, IL-1 $\beta$ , IL-1ra, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , G-CSF, GM-CSF, VEGF и MCP-1. При сравнении I и II групп были получены более высокие индексы влияния поликлональных активаторов на продукцию G-CSF и GM-CSF у пациентов с инвазивным протоковым раком. Более высокие значения при сравнении индексов влияния поликлональных активаторов на продукцию цитокинов пациентов I и III групп были получены у больных с инвазивным протоковым раком по продукции IL-2, G-CSF и GM-CSF, а у пациентов с фиброаденомой и мастопатией – по продукции IL-18 и TNF $\alpha$ . При сравнении пациентов I и IV групп были получены более высокие индексы влияния поликлональных активаторов только на продукцию IL-1ra, G-CSF и VEGF при инвазивном протоковом раке.

### **Адрес для переписки:**

Михайлова Елена Семеновна  
ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный  
медицинский университет»  
630091, Россия, г. Новосибирск, Красный пр., 52.  
Тел./факс: 8 (383) 226-35-60.  
E-mail: lpciip@211.ru

### **Address for correspondence:**

Mikhailova Elena S.  
Novosibirsk State Medical University  
630091, Russian Federation, Novosibirsk, Krasny ave, 52.  
Phone/Fax: 7 (383) 226-35-60.  
E-mail: lpciip@211.ru

### **Образец цитирования:**

Е.С. Михайлова, Н.А. Вараксин, С.А. Архипов,  
А.В. Голованова, А.А. Студеникина, А.И. Аутеншлюс  
«Цитокинпродуцирующий ресурс иммунокомпетентных  
клеток крови при опухолях и предраковых изменениях  
молочной железы» // Медицинская иммунология, 2018. Т. 20,  
№ 5. С. 681-690. doi: 10.15789/1563-0625-2018-5-681-690  
© Михайлова Е.С. и соавт., 2018

### **For citation:**

E.S. Mikhailova, N.A. Varaksin, S.A. Arkhipov, A.V. Golovanova,  
A.A. Studenikina, A.I. Autenshlyus "Cytokine-producing resource  
of immunocompetent blood cells in breast tumors and precancerous  
changes of mammary gland", *Medical Immunology (Russia)/  
Meditinskaya Immunologiya*, 2018, Vol. 20, no. 5, pp. 681-690.  
doi: 10.15789/1563-0625-2018-5-681-690  
DOI: 10.15789/1563-0625-2018-5-681-690

При сравнении индексов влияния поликлональных активаторов на продукцию цитокинов III и IV групп были получены более высокие показатели у пациентов с доброкачественными изменениями по следующим цитокинам: IL-8, IL-18, IL-1 $\beta$ , IL-1ra и TNF $\alpha$ . Более низкие индексы влияния поликлональных активаторов на продукцию ряда цитокинов пациентов с предраковыми изменениями по сравнению с пациентами со злокачественными и доброкачественными опухолями молочной железы не свидетельствуют о снижении функциональной активности иммунокомпетентных клеток крови, а обусловлены высоким уровнем спонтанной продукции цитокинов при склерозирующем аденозе и межпротоковых пролифератах.

*Ключевые слова:* цитокины, иммунокомпетентные клетки крови, опухоли, предраковые изменения молочной железы

## CYTOKINE-PRODUCING RESOURCE OF IMMUNOCOMPETENT BLOOD CELLS IN BREAST TUMORS AND PRECANCEROUS CHANGES OF MAMMARY GLAND

Mikhaylova E.S.<sup>a, b</sup>, Varaksin N.A.<sup>c</sup>, Arkhipov S.A.<sup>a, b</sup>, Golovanova A.V.<sup>a</sup>, Studenikina A.A.<sup>a</sup>, Autenshlyus A.I.<sup>a, b</sup>

<sup>a</sup> Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation

<sup>b</sup> Research Institute of Molecular Biology and Biophysics, Novosibirsk, Russian Federation

<sup>c</sup> JSC "Vector-Best", Novosibirsk, Russian Federation

**Abstract.** At present, only ductal carcinoma *in situ* is included into the group of precancerous lesions of mammary ducts, according to International Agency for the Study of Cancer. However, based on recent publications, in addition to ductal carcinoma *in situ*, sclerosing adenosis, intraductal proliferative lesions and radial scar may be also attributed to precancerous changes. A variety of both benign and malignant events in mammary gland, the features of neoplastic growth and age of the patients require new approaches to study of carcinogenic events in mammary gland. As based on the known role of cytokines in genesis of malignancies, the aim of the study was to evaluate the cytokine-producing resource of immunocompetent blood cells in malignant, benign and precancerous mammary disorders. To assess the cytokine-producing resource of immunocompetent blood cells in the patients, we studied quantitative effects of polyclonal activators upon production of cytokines by immunocompetent blood cells of patients with invasive ductal cancer representing a histological type of adenocarcinoma (group I), and patients with non-malignant breast neoplasias (group II). At subsequent step, the patients with non-malignant neoplasms of the breast were divided into a subgroup of patients with only fibroadenoma and mastopathy (group III), and a group which included patients with precancerous diseases, i.e., sclerosing adenosis and interductal proliferates (group IV). Concentrations of IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IL-18, IL-1 $\beta$ , IL-1ra, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , G-CSF, GM-CSF, VEGF, and MCP-1 were determined by solid-phase enzyme immunoassay. When comparing groups I and II, we revealed higher influence of polyclonal activators upon production of G-CSF and GM-CSF in patients with invasive ductal cancer. When comparing the influence of polyclonal activation for cytokine production in patients of I and III groups, higher values were registered in patients with invasive ductal cancer (production of IL-2, G-CSF, and GM-CSF), and in patients with fibroadenoma and mastopathy (IL-18, and TNF $\alpha$  production). When comparing patients of groups I and IV, higher indexes of the polyclonal activator effects were found only for IL-1ra, G-CSF, and VEGF production in invasive ductal cancer. When comparing the indexes of polyclonal activator influence upon cytokine production of groups III and IV, higher values were obtained in patients with benign changes for the following cytokines: IL-8, IL-18, IL-1 $\beta$ , IL-1ra and TNF $\alpha$ , in contrast to patients with sclerosing adenosis and proliferates. The lower indexes of polyclonal activating effects upon the production of a number of cytokines in patients with precancerous changes, as compared to patients with malignant and benign breast tumors, do not indicate a decreased functional activity of immunocompetent blood cells. However, those may be due to high level of spontaneous cytokine production in sclerosing adenosis and interductal proliferates.

*Keywords:* cytokines, blood immunocompetent cells, tumors, precancerous changes, mammary gland

## Введение

Опухоли молочной железы, согласно международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10), подразделяют на злокачественные (C50 – номер в МКБ-10), в том числе инвазивный протоковый рак, и доброкачественные (D24 – номер в МКБ-10), к которым относят аденому. Помимо этого, среди болезней молочной железы выделяют группу доброкачественных дисплазий (N60 – номер в МКБ-10). К последним относят кисту, диффузную кистозную мастопатию, фибroadеноз (склерозирующий аденоз), фибросклероз, эктазию протоков и другие дисплазии молочной железы (радиальный рубец). Согласно классификации Международного агентства по изучению рака (International Agency for Research on Cancer), в группу предраковых поражений протоков молочной железы включена протоковая карцинома *in situ* [15].

В то же время некоторые авторы относят к предраковым изменениям и склерозирующий аденоз, встречающийся достаточно редко [8, 17]. Также существенную роль в канцерогенезе играют радиальный рубец, который является стартовой площадкой для развития тубулярной карциномы [2], и внутрипротоковые пролиферативные поражения, повышающие риск развития рака молочной железы от 1,27 до 10,35 раза в зависимости от их формы [4, 7, 9, 11]. Таким образом, исходя из данных литературы, помимо протоковой карциномы *in situ*, к предраковым изменениям можно отнести склерозирующий аденоз, внутрипротоковые пролиферативные поражения и радиальный рубец.

Многообразие как доброкачественных, так и злокачественных процессов в молочной железе, особенности роста новообразований и возраст пациентов требуют новых подходов к изучению процесса канцерогенеза в молочной железе.

Исходя из современных представлений о роли цитокинов в патогенезе злокачественных новообразований [1], целью исследования явилась оценка цитокинпродуцирующего ресурса иммунокомпетентных клеток крови при злокачественных, доброкачественных заболеваниях и предраковых изменениях молочной железы.

## Материалы и методы

Для оценки цитокинпродуцирующего ресурса иммунокомпетентных клеток (ИКК) крови при злокачественных, доброкачественных заболеваниях и предраковых изменениях молочной железы изучали влияние поликлональных активаторов на продукцию цитокинов ИКК крови пациентов с инвазивным протоковым раком

(ИПР), являющимся по гистологическому типу аденокарциномой – I группа (n = 54), пациентов с незлокачественными новообразованиями молочной железы – II группа (n = 29), включающая фибroadеному (ФАМ) (n = 15), мастопатию (n = 6), и пациентов с предраковыми изменениями молочной железы: со склерозирующим аденозом и межпротоковыми пролифератами (n = 8). Диагноз устанавливался врачом-онкологом и врачом-патологоанатомом. Ни у кого из пациентов не было обострения очагов хронической инфекции. В дальнейшем II группа была разделена на группу III (n = 21), в которую вошли пациенты только с ФАМ и мастопатией, и на группу IV (n = 8), в которую вошли пациенты с предраковыми изменениями. Забор венозной крови у всех исследуемых пациентов осуществляли до оперативного вмешательства.

Цитокинпродуцирующий ресурс ИКК крови определяли с помощью комплекса поликлональных активаторов (ПА), состоящего из фитогемагглютинаина в концентрации 4 мкг/мл, конканавалина А в концентрации 4 мкг/мл и липополисахарида в концентрации 2 мкг/мл. В исследовании использовали стандартизованный набор реагентов «ЦИТОКИН-СТИМУЛ-БЕСТ» производства АО «Вектор-Бест». Одну часть клеток крови пациента инкубировали в питательной среде DMEM-F12 (для определения спонтанной продукции), а другую – в таком же объеме среды при 37 °С в течение 24 ч с комплексом ПА для определения индуцированной им продукции цитокинов, после чего клетки осаждали центрифугированием при 900 g, в течение 15 мин, получали супернатант, в котором с помощью твердофазного иммуноферментного анализа определяли концентрацию IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IL-18, IL-1 $\beta$ , IL-1ra, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , G-CSF, GM-CSF, VEGF и MCP-1 с использованием наборов реагентов производства АО «Вектор-Бест».

Цитокинпродуцирующий ресурс оценивали по индексу влияния поликлональных активаторов (ИВПА) на продукцию цитокинов ИКК крови, который высчитывали по формуле: ИВПА = А/Б, где А – концентрация в супернатанте цитокина после инкубации клеток крови с ПА, а Б – концентрация цитокина в супернатанте клеток крови без стимуляции ПА (спонтанная продукция).

Статистическую обработку данных выполняли с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни при помощи программного пакета Statistica v. 6.0. Показатели выражали в виде медианы – Me, нижнего и верхнего квартилей (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>).

## Результаты и обсуждение

ИВПА на продукцию цитокинов ИКК крови пациентов с ИПР – I группа и пациентов с незлокачественными заболеваниями молочной железы – II группа, включающая ФАМ, мастопатию, склерозирующий аденоз, межпротоковые пролифераты, представлены в таблице 1. Как видно из таблицы, I и II группы пациентов достоверно отличались только по двум показателям ИВПА: G-CSF и GM-CSF. При этом важно отметить, что показатель ИВПА на продукцию G-CSF и GM-CSF в группе пациентов со злокачественной опухолью в несколько раз превышал таковой по сравнению с показателями группы II.

Полученные данные указывают на то, что цитокинпродуцирующий ресурс иммунокомпетентных клеток крови при злокачественных и незлокачественных новообразованиях молочной железы отличается только по показателям ростовых факторов G-CSF и GM-CSF, которые, как известно, продуцируются как ИКК крови, так и клетками микроокружения опухоли [5, 6].

Это свидетельствует о том, что ИКК крови обладающая повышенным потенциальным ресурсом продукции ростовых факторов G-CSF и GM-CSF при ИПР, попадая через кровеносное русло в опухоль, стимулируют злокачественную прогрессию, чего не отмечается при доброкачественной патологии молочной железы.

В таблице 2 представлены результаты исследования цитокинпродуцирующего ресурса иммунокомпетентных клеток при сравнении показателей ИВПА на продукцию цитокинов ИКК крови в I группе и в группе с доброкачественными заболеваниями молочной железы, в которую были включены только пациенты с ФАМ и мастопатией – III группа. Как видно из таблицы 2, рассматриваемые группы достоверно отличались по 5 показателям ИВПА на продукцию IL-2, IL-18, TNF $\alpha$ , G-CSF и GM-CSF. При этом наиболее выраженные достоверные различия были выявлены при сравнении ИВПА на продукцию GM-CSF – ростового фактора, продуцируемого в основном моноцитами и гранулоцитами крови. Необходимо отметить, что ИВПА на продукцию

**ТАБЛИЦА 1. ЗНАЧЕНИЯ ИВПА НА ПРОДУКЦИЮ ЦИТОКИНОВ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫМИ КЛЕТКАМИ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ИНВАЗИВНЫМ ПРОТОКОВЫМ РАКОМ И ПАЦИЕНТОВ С НЕЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (Me, Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

TABLE 1. INDEX VALUES OF POLYCLONAL ACTIVATOR INFLUENCE (IVPA) UPON CYTOKINE PRODUCTION BY BLOOD IMMUNOCOMPETENT CELLS OF PATIENTS WITH INVASIVE DUCTAL CARCINOMA AND PATIENTS WITH NON-MALIGNANT BREAST TUMORS (Me, Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

Цитокины Cytokines	I группа Group I	II группа Group II	Достоверность различий (p) Significance of differences
	ИВПА, Index values of polyclonal activator influence	ИВПА Index values of polyclonal activator influence	
IL-2	8,65 (4,80-15,80)	8,55 (3,30-12,85)	0,4499
IL-6	59,95 (20,81-179,27)	61,45 (27,17-186,08)	0,9432
IL-8	24,15 (6,00-60,80)	18,83 (7,77-35,75)	0,5400
IL-10	35,68 (16,60-59,18)	42,92 (20,97-70,58)	0,2321
IL-17	28,20 (12,20-57,50)	24,85 (12,40-60,70)	0,6451
IL-18	1,26 (1,10-1,50)	1,29 (1,16-1,50)	0,4614
IL-1 $\beta$	31,400 (14,50-78,90)	26,43 (13,98-52,96)	0,2844
IL-1ra	12,65 (8,50-16,30)	10,86 (6,38-15,88)	0,3948
TNF $\alpha$	51,45 (15,30-139,10)	65,24 (25,94-163,55)	0,3156
IFN $\gamma$	291,30 (69,90-622,70)	190,45 (24,05-358,35)	0,3638
G-CSF	58,50 (20,10-277,50)	20,90 (2,75-89,33)	0,0043
GM-CSF	17,55 (7,70-28,55)	6,90 (2,76-17,05)	0,0079
VEGF	2,59 (1,80-3,38)	1,99 (1,36-2,74)	0,1502
MCP-1	1,28 (0,50-2,70)	1,04 (0,31-1,51)	0,2573

G-CSF и GM-CSF были повышены при злокачественной патологии по сравнению с показателями пациентов группы III, так же как и при сравнении ИВПА на продукцию цитокинов ИКК крови пациентов I группы с показателями ИВПА II группы (табл. 1). Кроме того, был выявлен более высокий ИВПА на продукцию IL-2 пациентов I группы по сравнению с аналогичным показателем пациентов III группы. Известно, что IL-2, взаимодействуя с рецептором на клеточной мембране, приводит к активации тирозинкиназ Janus (Jak1, Jak3), которые регулируют транскрипцию генов, контролирующих клеточный цикл, организацию цитоскелета, пролиферацию и предотвращение апоптоза, а клетки многих опухолей способны экспрессировать рецептор к IL-2, что сопровождается повышением их пролиферативной активности, большей агрессивностью и плохим прогнозом [3, 16]. Также исключение из группы с незлокачественной патологией пациентов со склерозирующим аденозом и межпротоковыми пролифератами привело к появлению достоверных различий по показателю продукции

IL-18 ИКК крови пациентов с ИПР, по сравнению с группой пациентов с ФАМ и мастопатией. IL-18 принимает участие в процессе ангиогенеза, увеличивая миграцию эндотелиальных клеток, а также повышает продукцию VEGF [12]. Кроме того, появилось различие по ИВПА на продукцию ИКК крови TNF $\alpha$  между сравниваемыми выше группами пациентов, который был более высоким у пациентов с доброкачественной патологией молочной железы.

Выделение из II группы больных с ФАМ и мастопатиями в самостоятельную III группу привело к получению достоверных различий по ИВПА на продукцию ряда цитокинов, которые не были обнаружены ранее при сравнении данных I и II групп. В связи с этим особый интерес представляло проведение сравнения цитокинпродуцирующего ресурса ИКК крови в I группе с показателями группы пациентов со склерозирующим аденозом и межпротоковыми пролифератами – IV группа, которые некоторые исследователи относят к предраковым изменениям в молочной железе.

**ТАБЛИЦА 2. ЗНАЧЕНИЯ ИВПА НА ПРОДУКЦИЮ ЦИТОКИНОВ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫМИ КЛЕТКАМИ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ИНВАЗИВНЫМ ПРОТОВОКОВЫМ РАКОМ И ПАЦИЕНТОВ С ФИБРОАДЕНОМОЙ И МАСТОПАТИЕЙ (Me, Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

TABLE 2. INDEX VALUES OF POLYCLONAL ACTIVATOR INFLUENCE (IVPA) UPON CYTOKINE PRODUCTION BY BLOOD IMMUNOCOMPETENT CELLS OF PATIENTS WITH INVASIVE DUCTAL CARCINOMA AND PATIENTS WITH FIBROADENOMA AND MASTOPATHY (Me, Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

Цитокины Cytokines	I группа Group I	II группа Group II	Достоверность различий (p) Significance of differences
	ИВПА Index values of polyclonal activator influence	ИВПА Index values of polyclonal activator influence	
IL-2	8,65 (4,80-15,80)	5,00 (2,00-13,80)	0,0489
IL-6	59,95 (20,81-179,27)	90,71 (51,34-223,01)	0,2290
IL-8	24,15 (6,00-60,80)	32,95 (19,76-62,25)	0,3108
IL-10	35,68 (16,60-59,18)	51,30 (22,16-86,10)	0,1441
IL-17	28,20 (12,20-57,50)	21,60 (9,75-55,25)	0,3326
IL-18	1,26 (1,10-1,50)	1,40 (1,29-1,65)	0,0234
IL-1 $\beta$	31,40 (14,50-78,90)	37,67 (18,79-66,66)	0,6624
IL-1ra	12,65 (8,50-16,30)	10,94 (8,78-15,43)	0,7951
TNF $\alpha$	51,45 (15,30-139,10)	90,31 (46,25-248,48)	0,0314
IFN $\gamma$	291,30 (69,90-622,70)	63,85 (13,00-490,65)	0,1670
G-CSF	58,50 (20,10-277,50)	31,52 (2,09-121,51)	0,0220
GM-CSF	17,55 (7,70-28,55)	5,25 (1,35-21,65)	0,0053
VEGF	2,59 (1,80-3,38)	2,37 (1,55-3,24)	0,8119
MCP-1	1,28 (0,50-2,70)	1,17 (0,81-2,25)	0,9411

**ТАБЛИЦА 3. ЗНАЧЕНИЯ ИВПА НА ПРОДУКЦИЮ ЦИТОКИНОВ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫМИ КЛЕТКАМИ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ИНВАЗИВНЫМ ПРОТОВОКОВЫМ РАКОМ И ПАЦИЕНТОВ СО СКЛЕРОЗИРУЮЩИМ АДЕНОЗОМ И МЕЖПРОТОВОКОВЫМИ ПРОЛИФЕРАТАМИ (Me, Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

TABLE 3. INDEX VALUES OF POLYCLONAL ACTIVATOR INFLUENCE (IVPA) UPON CYTOKINE PRODUCTION BY BLOOD IMMUNOCOMPETENT CELLS OF PATIENTS WITH INVASIVE DUCTAL CARCINOMA AND PATIENTS WITH SCLEROSING ADENOSIS AND INTERDUCTAL PROLIFERATES (Me, Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

Цитокины Cytokines	I группа Group I	IV группа Group IV	Достоверность различий (p) Significance of differences
	ИВПА Index values of polyclonal activator influence	ИВПА Index values of polyclonal activator influence	
IL-2	8,65 (4,80-15,80)	9,37 (4,00-12,20)	0,7500
IL-6	59,95 (20,81-179,27)	53,41 (18,36-118,64)	0,3316
IL-8	24,15 (6,00-60,80)	10,20 (4,92-16,45)	0,0620
IL-10	35,68 (16,60-59,18)	33,24 (20,85-58,46)	0,8794
IL-17	28,20 (12,20-57,50)	22,55 (12,40-44,70)	0,5142
IL-18	1,26 (1,10-1,50)	1,21 (1,11-1,33)	0,6482
IL-1β	31,40 (14,50-78,90)	18,22 (11,41-31,35)	0,0865
IL-1ra	12,65 (8,50-16,30)	7,60 (4,15-11,45)	0,0267
TNFα	51,45 (15,30-139,10)	32,62 (12,81-114,37)	0,7045
IFNγ	291,30 (69,90-622,70)	288,77 (34,95-358,35)	0,6600
G-CSF	58,50 (20,10-277,50)	16,08 (8,64-33,84)	0,0158
GM-CSF	17,55 (7,70-28,55)	10,39 (4,26-25,55)	0,1182
VEGF	2,59 (1,80-3,38)	1,82 (1,36-2,15)	0,0407
MCP-1	1,28 (0,50-2,70)	0,50 (0,27-1,39)	0,0751

**ТАБЛИЦА 4. ЗНАЧЕНИЯ ИВПА НА ПРОДУКЦИЮ ЦИТОКИНОВ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫМИ КЛЕТКАМИ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С НЕЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (Me, Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

TABLE 4. INDEX VALUES OF POLYCLONAL ACTIVATOR INFLUENCE (IVPA) UPON CYTOKINE PRODUCTION BY BLOOD IMMUNOCOMPETENT CELLS OF PATIENTS WITH NON-MALIGNANT BREAST TUMORS (Me, Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

Цитокины Cytokines	III группа Group III	IV группа Group IV	Достоверность различий (p) Significance of differences
	ИВПА Index values of polyclonal activator influence	ИВПА Index values of polyclonal activator influence	
IL-2	5,00 (2,00-13,80)	9,37 (4,00-12,20)	0,3440
IL-6	90,71 (51,34-223,01)	53,41 (18,36-118,64)	0,1074
IL-8	32,95 (19,76-62,25)	10,20 (4,92-16,45)	0,0056
IL-10	51,30 (22,16-86,10)	33,24 (20,85-58,46)	0,2191
IL-17	21,60 (9,75-55,25)	22,55 (12,40-44,70)	0,8650
IL-18	1,40 (1,29-1,65)	1,21 (1,11-1,33)	0,0217
IL-1β	37,67 (18,79-66,66)	18,22 (11,41-31,35)	0,0423
IL-1ra	10,94 (8,78-15,43)	7,60 (4,15-11,45)	0,0457
TNFα	90,31 (46,25-248,48)	32,62 (12,81-114,37)	0,0332
IFNγ	63,85 (13,00-490,65)	288,77 (34,95-358,35)	0,2437
G-CSF	31,52 (2,09-121,51)	16,08 (8,64-33,84)	0,1000
GM-CSF	5,25 (1,35-21,65)	10,39 (4,26-25,55)	0,4667
VEGF	2,37 (1,55-3,24)	1,82 (1,36-2,15)	0,2913
MCP-1	1,17 (0,81-2,25)	0,50 (0,27-1,39)	0,1599

**ТАБЛИЦА 5. КОНЦЕНТРАЦИЯ ЦИТОКИНОВ В СУПЕРНАТАНТЕ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С НЕЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (СПОНТАННАЯ ПРОДУКЦИЯ) Me, (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>), пг/мл**

TABLE 5. CONCENTRATION OF CYTOKINES IN THE SUPERNATES OF IMMUNOCOMPETENT BLOOD CELLS FROM PATIENTS WITH NON-MALIGNANT BREAST DISORDERS (SPONTANEOUS PRODUCTION) Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>), pg/ml

Цитокины Cytokines	III группа Group III	IV группа Group IV	Достоверность различий (p) Significance of differences
IL-2	2,00 (2,00-2,00)	2,00 (2,00-2,00)	0,8407
IL-6	130,10 (70,80-443,50)	503,75 (70,80-798,00)	0,1300
IL-8	645,00 (355,00-2345,00)	1962,50 (805,00-5115,00)	0,0022
IL-10	2,00 (1,00-4,60)	2,15 (1,00-4,60)	0,7221
IL-17	2,00 (2,00-2,00)	2,00 (1,00-2,00)	0,1221
IL-18	20,60 (14,10-34,00)	22,85 (19,50-38,00)	0,3130
IL-1β	44,40 (18,10-84,10)	82,50 (50,40-99,40)	0,0008
IL-1ra	810,00 (493,00-1241,90)	1264,70 (917,80-1833,20)	0,0281
TNFα	8,60 (4,50-12,60)	18,15 (11,70-28,40)	0,0016
IFNγ	2,00 (2,00-2,00)	2,00 (2,00-2,00)	0,7221
G-CSF	10,70 (3,60-19,90)	28,60 (10,70-79,90)	0,0076
GM-CSF	2,50 (2,00-5,90)	4,45 (2,00-17,80)	0,1383
VEGF	68,00 (38,00-99,80)	82,15 (63,10-112,00)	0,1074
MCP-1	3490,00 (1792,00-6259,00)	6157,50 (2901,00-13067,00)	0,0103

**ТАБЛИЦА 6. КОНЦЕНТРАЦИЯ ЦИТОКИНОВ В СУПЕРНАТАНТЕ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С ИНВАЗИВНЫМ ПРОТОВОКОВЫМ РАКОМ И ПАЦИЕНТОВ С ПРЕДРАКОВЫМИ ИЗМЕНЕНИЯМИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (СПОНТАННАЯ ПРОДУКЦИЯ) Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>), пг/мл**

TABLE 6. CONCENTRATION OF CYTOKINES IN THE SUPERNATES OF IMMUNOCOMPETENT BLOOD CELLS FROM THE PATIENTS WITH INVASIVE DUCTAL CARCINOMA AND PATIENTS WITH PRECANCEROUS CHANGES OF MAMMARY GLAND (SPONTANEOUS PRODUCTION) Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>), pg/ml

Цитокины Cytokines	I группа Group I	IV группа Group IV	Достоверность различий (p) Significance of differences
IL-2	2,00 (2,00-2,00)	2,00 (2,00-2,00)	0,6798
IL-6	180,15 (58,00-643,40)	503,75 (70,80-798,00)	0,3872
IL-8	642,50 (320,00-2445,00)	1962,50 (805,00-5115,00)	0,0419
IL-10	2,95 (1,00-5,80)	2,15 (1,00-4,60)	0,5632
IL-17	2,00 (2,00-2,00)	2,00 (1,00-2,00)	0,5734
IL-18	25,25 (21,20-31,40)	22,85 (19,50-38,00)	0,7470
IL-1β	45,75 (15,60-106,50)	82,50 (50,40-99,40)	0,1446
IL-1ra	629,00 (456,80-944,50)	1264,70 (917,80-1833,20)	0,0050
TNFα	11,55 (4,50-21,50)	18,15 (11,70-28,40)	0,1577
IFNγ	2,00 (2,00-2,00)	2,00 (2,00-2,00)	0,7470
G-CSF	13,00 (2,00-40,10)	28,60 (10,70-79,90)	0,0970
GM-CSF	2,60 (2,00-7,80)	4,45 (2,00-17,80)	0,2023
VEGF	50,25 (28,70-80,50)	82,15 (63,10-112,00)	0,0125
MCP-1	2659,50 (1211,00-6601,30)	6157,50 (2901,00-13067,00)	0,0283

Как видно из таблицы 3, отмечались достоверные различия в сравниваемых группах пациентов по ИВПА на продукцию IL-1ra, G-CSF и VEGF. Последний играет ключевую роль в ангиогенезе опухоли и в метастазировании [13], а IL-1ra может быть маркером выраженности воспалительной реакции при раке [10]. Наиболее выраженные достоверные различия были выявлены при сравнении ИВПА на продукцию фактора роста G-CSF.

Таким образом, при сопоставлении данных таблиц видно, что различные принципы формирования групп сравнения позволяют вскрыть особенности цитокинового ресурса при раке молочной железы, при доброкачественных опухолях и предраковых изменениях в молочной железе.

В связи с этим представляло интерес сравнение показателей ИВПА на продукцию цитокинов группы пациентов с фиброаденомой и мастопатией (III группа) с группой пациентов с предраковыми изменениями в молочной железе (IV группа).

Как видно из таблицы 4, рассматриваемые группы достоверно отличались по 5 показателям ИВПА на продукцию IL-8, IL-18, IL-1 $\beta$ , IL-1ra и TNF $\alpha$ . Причем ИВПА на продукцию этих цитокинов во всех случаях был более высоким у пациентов III группы.

Однако показатели ИВПА на продукцию вышеуказанных цитокинов у пациентов IV группы были более низкими за счет более высокой спонтанной продукции этих цитокинов (табл. 5),

за исключением показателя ИВПА на продукцию IL-18, обсуждать который необходимо в связке с регулятором его биологического эффекта – IL-18BP. Следовательно, ИКК крови пациентов с предраковыми изменениями молочной железы были активированы, поэтому ПА не оказывали на них такого влияния, как на ИКК крови пациентов с доброкачественными изменениями в молочной железе, что выражалось в более низких значениях ИВПА ИКК крови пациентов IV группы. То есть представленные в таблице 4 и 5 данные необходимо рассматривать под иным углом зрения, а именно основной упор при анализе показателей пациентов с предраковыми изменениями молочной железы необходимо делать на уровнях спонтанной продукции цитокинов ИКК крови.

При сравнении концентрации (спонтанной продукции) цитокинов в супернатанте ИКК крови пациентов I и IV групп были получены различия, заключающиеся в более высокой концентрации в супернатанте ИКК крови IL-8, IL-1ra VEGF и MCP-1 у пациентов с предраковыми изменениями молочной железы (табл. 6).

Таким образом, проведенное исследование позволило выявить особенности цитокинпродуцирующего ресурса ИКК крови у пациентов с ИПР, доброкачественными опухолями и предраковыми изменениями молочной железы.

## Список литературы / References

1. Соснина А.В., Великая Н.В., Вараксин Н.А., Гришаев М.П., Аутеншлюс А.И. Роль цитокинов в патогенезе злокачественных новообразований. Новосибирск: Офсет, 2014. 128 с. [Sosnina A.V., Velikaya N.V., Varaksin N.A., Grishaev M.P., Autenshlyus A.I. The role of cytokines in the pathogenesis of malignant neoplasms]. Novosibirsk: Ofset, 2014. 128 p.
2. Aroner S.A., Collins L.C., Connolly J.L., Colditz G.A., Schnitt S.J., Rosner B.A., Hankinson S.E., Tamimi R.M. Radial scars and subsequent breast cancer risk: results from the Nurses' Health Studies. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2013, Vol. 1, no. 139, pp. 277-285.
3. Burchill M.A., Yang J., Vang K.B., Farrar M.A. Interleukin-2 receptor signaling in regulatory T cell development and homeostasis. *Immunol. Lett.*, 2007, Vol. 1, no. 114, pp. 1-8.
4. Castells X., Domingo L., Corominas J.M., Torá-Rocamora I., Quintana M.J., Baré M., Vidal C., Natal C., Sánchez M., Saladié F., Ferrer J., Vernet M., Servitja S., Rodríguez-Arana A., Roman M., Espinàs J.A., Sala M. Breast cancer risk after diagnosis by screening mammography of nonproliferative or proliferative benign breast disease: a study from a population-based screening program. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2015, Vol. 1, no. 149, pp. 237-244.
5. Chavey C., Bibeau F., Gourgou-Bourgade S., Burlinchon S., Boissière F., Laune D., Roques S., Lazennec G. Oestrogen receptor negative breast cancers exhibit high cytokine content. *Breast Cancer Res.*, 2007, Vol. 1, no. 9, pp. 1-11.
6. Chen Y., Zhao Z., Chen Y., Lv Z., Ding X., Wang R., Xiao H., Hou C., Shen B., Feng J., Guo R., Li Y., Peng H., Han G., Chen G. An epithelial-to-mesenchymal transition-inducing potential of granulocyte macrophage colony-stimulating factor in colon cancer. *Sci. Rep.*, 2017, Vol. 1, no. 7, pp. 1-12.
7. Cote M.L., Ruterbusch J. J., Alesh B., Bandyopadhyay S., Kim E., Albashiti B., Sharaf Aldeen B., Radisky D.C., Frost M.H., Visscher D.W., Hartmann L.C., Nassar W.H., Ali-Femhi R. Benign breast disease and the risk of subsequent breast cancer in African American women. *Cancer Prev. Res. (Phila.)*, 2012, Vol. 12, no. 5, pp. 1375-1380.

8. Degnim A.C., Nassar A., Stallings-Mann M., Keith Anderson S., Oberg A.L., Vierkant R.A., Frank R.D., Wang C., Winham S.J., Frost M.H., Hartmann L.C., Visscher D.W., Radisky D.C. Gene signature model for breast cancer risk prediction for women with sclerosing adenosis. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2015, Vol. 3, no. 152, pp. 687-694.
9. Degnim A.C., Visscher D.W., Berman H.K., Frost M.H., Sellers T.A., Vierkant R.A., Maloney S.D., Pankratz V.S., de Groen P.C., Lingle W.L., Ghosh K., Penheiter L., Tlsty T., Melton L.J. 3<sup>rd</sup>, Reynolds C.A., Hartmann L.C. Stratification of breast cancer risk in women with atypia: a Mayo cohort study. *J. Clin. Oncol.*, 2007, Vol. 19, no. 25, pp. 2671-2677.
10. Dinarello C.A. Why not treat human cancer with interleukin-1 blockade? *Cancer Metastasis Rev.*, 2010, Vol. 2, no. 29, pp. 317-329.
11. Hartmann L.C., Sellers T.A., Frost M.H., Lingle W.L., Degnim A.C., Ghosh K., Vierkant R.A., Maloney S.D., Pankratz V.S., Hillman D.W., Suman V.J., Johnson J., Blake C., Tlsty T., Vachon C.M., Melton L.J. 3<sup>rd</sup>, Visscher D.W. Benign breast disease and the risk of breast cancer. *N. Engl. J. Med.*, 2005, Vol. 3, no. 353, pp. 229-237.
12. Kim K.E., Song H., Kim T.S., Yoon D., Kim C.W., Bang S.I., Hur D.Y., Park H., Cho D.H. Interleukin-18 is a critical factor for vascular endothelial growth factor-enhanced migration in human gastric cancer cell lines. *Oncogene*, 2007, Vol. 10, no. 26, pp. 1468-1476.
13. Lalla R.V., Boisoineau D.S., Spiro J.D., Kreutzer D.L. Expression of vascular endothelial growth factor receptors on tumor cells in head and neck squamous cell carcinoma. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.*, 2003, Vol. 8, no. 129, pp. 882-888.
14. Lewis A.M., Varghese S., Xu H., Alexander H.R. Interleukin-1 and cancer progression: the emerging role of interleukin-1 receptor antagonist as a novel therapeutic agent in cancer treatment. *J. Transl. Med.*, 2006, Vol. 4, no. 48, pp. 1-12.
15. Morrow M., Schnitt S.J., Norton L. Current management of lesions associated with an increased risk of breast cancer. *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, 2015, Vol. 4, no. 12, pp. 227-238.
16. Olejniczak K., Kasprzak A. Biological properties of interleukin 2 and its role in pathogenesis of selected diseases – a review. *Med. Sci. Monit.*, 2008, Vol. 10, no. 14, pp. 179-189.
17. Visscher D.W., Nassar A., Degnim A.C., Frost M.H., Vierkant R.A., Frank R.D., Tarabishy Y., Radisky D.C., Hartmann L.C. Sclerosing adenosis and risk of breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2014, Vol. 1, no. 144, pp. 205-212.

---

**Авторы:**

**Михайлова Е.С.** – научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет»; старший научный сотрудник лаборатории метаболизма лекарств и фармакокинетики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики», г. Новосибирск, Россия

**Вараксин Н.А.** – заведующий лабораторией АО «Вектор-Бест», г. Новосибирск, Россия

**Архипов С.А.** – д.б.н., заведующий лабораторией иммуногистохимии, биохимии и фармакологии, центральная научно-исследовательской лаборатория ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет»; старший научный сотрудник лаборатории метаболизма лекарств и фармакокинетики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики», г. Новосибирск, Россия

**Authors:**

**Mikhaylova E.S.**, Research Associate, Central Research Laboratory, Novosibirsk State Medical University; Senior Research Associate, Laboratory of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, Research Institute of Molecular Biology and Biophysics, Novosibirsk, Russian Federation

**Varaksin N.A.**, Head of Laboratory, JSC “Vector-Best”, Novosibirsk, Russian Federation

**Arkhipov S.A.**, PhD, MD (Biology), Head, Laboratory of Immunohistochemistry, Biochemistry and Pharmacology, Central Research Laboratory, Novosibirsk State Medical University; Senior Research Associate, Laboratory of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, Research Institute of Molecular Biology and Biophysics, Novosibirsk, Russian Federation

**Голованова А.В.** — младший научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет», г. Новосибирск, Россия

**Студеникина А.А.** — младший научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет», г. Новосибирск, Россия

**Аутеншлюс А.И.** — д.б.н., профессор, заведующий центральной научно-исследовательской лабораторией ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет»; главный научный сотрудник лаборатории метаболизма лекарств и фармакокинетики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики», г. Новосибирск, Россия

**Golovanova A.V.**, Junior Research Associate, Central Research Laboratory, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation

**Studenikina A.A.**, Junior Research Associate, Central Research Laboratory, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation

**Autenshlyus A.I.**, PhD, MD (Biology), Professor, Head, Central Research Laboratory, Novosibirsk State Medical University; Chief Research Associate, Laboratory of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, Research Institute of Molecular Biology and Biophysics, Novosibirsk, Russian Federation

---

Поступила 11.10.2017

Отправлена на доработку 16.10.2017

Принята к печати 20.10.2017

Received 11.10.2017

Revision received 16.10.2017

Accepted 20.10.2017

---