

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

©Коллектив авторов

ОЦЕНКА ЦИТОКИНПРОДУЦИРУЮЩЕГО РЕСУРСА БИОПТАТОВ ОПУХОЛЕЙ ПАЦИЕНТОВ С ИНВАЗИВНОЙ КАРЦИНОМОЙ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ТИПА И С НЕЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

А.И. Аутенилюс^{1,2}, А.А. Студеникина¹, А.В. Бернадо¹, Е.С. Михайлова^{1,2},
А.В. Проскура², С.В. Сидоров⁴, Н.А. Вараксин³, В.В. Ляхович²*

¹Новосибирский государственный медицинский университет,
630091, Новосибирск, Красный проспект, 52; *эл. почта: lrciir@211.ru

²Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики – структурное подразделение
Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины,
630117, Новосибирск, ул. Тимакова, 2/12

³АО “Вектор-Бест”, 630559, Новосибирская область, р.п. Кольцово,
Научно-производственная зона, корпус 36

⁴Новосибирский национальный исследовательский государственный университет,
630090, Новосибирск, ул. Пирогова, 2

Рак молочной железы в большинстве случаев является примером злокачественного новообразования, связанного с инфильтрацией опухоли клетками, образующими микроокружение опухоли и продуцирующими различные цитокины. Целью исследования была оценка цитокинпродуцирующей функции опухолевых клеток и их микроокружения в биоптатах опухоли пациентов с инвазивной карциномой неспецифического типа (группа I) и у пациентов с незлокачественными заболеваниями молочной железы (группа II). Больные II группы были разделены на группу IIa, в которую вошли пациенты только с фибroadеномой, и группу IIб, в которую вошли остальные пациенты с листовидной фибroadеномой, фибroadеноматозом, фиброзно-кистозной мастопатией, внутрипротоковым папилломатозом, склерозирующим аденозом и фиброзно-кистозной мастопатией с микрокальцинатами. Концентрацию IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IL-18, IL-1β, IL-1Ra, TNF-α, IFN-γ, G-CSF, GM-CSF, VEGF и MCP-1 определяли в супернатанте биоптатов опухолей. Для оценки цитокинпродуцирующей активности биоптатов опухоли и её микроокружения определяли индекс влияния поликлональных активаторов на продукцию цитокинов. При сравнении I и II групп были получены высокие индексы влияния поликлональных активаторов на продукцию IL-17, IL-18 и TNF-α у пациентов с незлокачественными заболеваниями. Более высокие значения индексов влияния поликлональных активаторов на продукцию IL-18, TNF-α, и IL-1β и соотношения IL1β/IL1Ra были у пациентов с фибroadеномой по сравнению с инвазивной карциномой неспецифического типа. Статистически значимых различий в группах I и IIб по индексам влияния поликлональных активаторов обнаружено не было. Это позволяет предположить существование аналогичных инвазивной карциноме неспецифического типа изменений в молочной железе у пациентов IIб группы. При сравнении групп IIa и IIб были получены более высокие значения индекса влияния поликлональных активаторов на продукцию IL-1β, а также соотношения IL1β/IL1Ra у пациентов с фибroadеномой молочной железы. Проведённое исследование позволило выявить особенности цитокинпродуцирующего ресурса биоптатов опухолей у пациентов с инвазивной карциномой неспецифического типа и с доброкачественными опухолями молочной железы.

Ключевые слова: цитокины; микроокружение опухоли; заболевания молочной железы

DOI: 10.18097/PBMC20196505418

ВВЕДЕНИЕ

Рак молочной железы в большинстве случаев является примером злокачественного новообразования, связанного с инфильтрацией опухоли клетками, участвующими в воспалительных процессах. Результаты большого количества исследований показывают, что многие из воспалительных компонентов, являющихся продуктом клеток микроокружения опухоли, активно поддерживают прогрессирование рака молочной железы [1-4]. В понятие микроокружение включают иммунокомпетентные клетки, фибробласты, фиброциты, эпителиоциты и др. Микроокружение опухоли продуцирует различные цитокины и медиаторы; и, кроме того, сама опухоль способна секретировать цитокины [5].

Одним из факторов, предшествующих развитию рака, может быть и доброкачественное заболевание молочной железы [6]. Доброкачественные заболевания подразделяются на непролиферативные, пролиферативные заболевания без атипии и пролиферативные заболевания с атипией. Согласно результатам исследований, все три подтипа доброкачественных заболеваний повышают риск развития рака молочной железы, но степень риска различна в каждом из них [7]. В исследованиях Salamat и соавт. уровень риска развития злокачественного новообразования у пациентов с пролиферативными поражениями в 3-5 раз выше, чем у пациентов с непролиферативными поражениями [8, 9].

Целью представленного исследования была оценка цитокинпродуцирующей функции опухолевых клеток и их микроокружения у пациентов с инвазивной карциномой неспецифического типа и у пациентов с незлокачественными заболеваниями молочной железы.

МЕТОДИКА

Материалом исследования служили образцы биоптатов опухоли 126 женщин с заболеваниями молочной железы. Пациенты были разделены на две группы. Группа I (n=92; средний возраст $57 \pm 4,5$ (от 38 до 75 лет)) – пациенты с инвазивной карциномой неспецифического типа (ИКНТ), группа II (n=34; средний возраст $48,5 \pm 2,5$ (от 18 до 67 лет)) – пациенты с незлокачественными новообразованиями молочной железы (НЗ), включающими фиброаденому, листовидную фиброаденому, фиброаденоматоз, фиброзно-кистозную мастопатию, внутрипротоковый папилломатоз, склерозирующий аденоз и фиброзно-кистозную мастопатию с микрокальцинатами. В свою очередь группа II была разделена на группу IIa (n=20; средний возраст $46 \pm 3,2$ (от 18 до 60 лет)), в которую вошли пациенты только с фиброаденомой, и на группу IIб (n=14; средний возраст $55,5 \pm 2,6$ (от 38 до 67 лет)), в которую вошли остальные пациенты группы II.

Диагноз устанавливался врачом-онкологом и врачом-патологоанатомом. Ни у кого из пациентов не было обострения очагов хронической инфекции.

Цитокинпродуцирующую активность опухоли и её микроокружения оценивали с помощью набора “Цитокин-стимул-бест” производства “Вектор-Бест” (Россия). Образцы биоптатов опухоли (8 мм³), полученные методом трепанобиопсии, помещали во флаконы, в одном из которых находилась только питательная среда DMEM-F12 в объёме 1 мл (анализ спонтанной продукции цитокинов), а во втором – комплекс поликлональных активаторов (ПА) (фитогемагглютинин 4 мкг/мл, конканавалин А 4 мкг/мл и липополисахарид 2 мкг/мл) в одинаковом с первым флаконом объёме среды (для последующего анализа стимулированной продукции цитокинов) [11, 12]. Образцы инкубировали при 37°C в течение 72 ч, после чего клетки осаждали центрифугированием при 900 g в течение 15 мин при комнатной температуре. В полученном супернатанте с помощью иммуноферментного анализа определяли концентрацию IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IL-18, IL-1 β , IL-1Ra, TNF- α , IFN- γ , G-CSF, GM-CSF, VEGF и MCP-1 с использованием наборов реагентов производства “Вектор-Бест”. Индекс влияния поликлональных активаторов (ИВПА) на продукцию цитокинов биоптатом рассчитывали по формуле: ИВПА = А/Б, где А – концентрация цитокина в супернатанте биоптата опухоли после инкубации клеток с ПА, а Б – концентрация цитокина в супернатанте биоптата опухоли без стимуляции ПА (спонтанная продукция). ИВПА выражали в условных единицах (у.е.). Значения ИВПА 1,2 и более (превышение на 20% и более при влиянии ПА

на продукцию цитокинов в биоптатах опухолей) свидетельствовали о наличии цитокинпродуцирующего резерва клеток опухоли и её микроокружения, а значения ИВПА менее 1,2 свидетельствовали об отсутствии цитокинпродуцирующей способности клеток при стимуляции ПА или же о высокой спонтанной активности цитокинпродуцирующих клеток. Помимо этого определяли соотношение ИВПА на продукцию IL-1 β к ИВПА на продукцию IL-1Ra.

Статистическую обработку данных выполняли с помощью программного пакета Statistica V6.0. При определении характера распределения данных использовали уравнение Колмогорова-Смирнова с определением поправки Лиллифорса. Поскольку распределение отличалось от нормального, анализ проводили с использованием непараметрического критерия Уилкоксона-Манна-Уитни. Показатели выражали в виде медианы – Ме и нижнего и верхнего процентилей (25; 75). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Значение ИВПА на продукцию цитокинов опухолью и её микроокружением в биоптатах пациентов с ИКНТ (I группа) и пациентов с незлокачественными заболеваниями молочной железы (II группа) представлены в таблице 1. Поскольку не все уровни цитокинов соответствуют нормальному закону распределения, в таблице 1 приведены медианы значений и квартильное отклонение.

Как видно из таблицы 1, пациенты I и II группы статистически значимо отличались по трём показателям ИВПА: IL-17, IL-18 и TNF- α . При этом важно отметить, что ИВПА на продукцию этих цитокинов в группе пациентов с НЗ был выше, чем у пациентов с ИКНТ.

Многочисленные исследования показали, что IL-17 прямо или косвенно способствует ангиогенезу опухоли и пролиферации клеток. Помимо этого, IL-17 ингибирует апоптоз через активацию воспалительных сигнальных путей, способствует метастазированию и прогрессированию рака [13, 14]. Полученные нами различия по ИВПА на продукцию IL-17 между I и II группами свидетельствуют о том, что ПА не вызывает повышения продукции IL-17 злокачественной опухолью и её микроокружением по сравнению с незлокачественными заболеваниями молочной железы, что, по-видимому, объясняется более высокой спонтанной продукцией этого цитокина.

Известно, что IL-18 может оказывать на злокачественное новообразование как проопухолевое (провоспалительное), так и противоопухолевое влияние. Высокий уровень сывороточного IL-18 сопряжён с плохим прогнозом при нескольких типах рака [15]. Более высокая экспрессия или секреция IL-18 была обнаружена в различных раковых клетках [16]. Именно поэтому низкие значения ИВПА, наблюдаемые у пациентов с ИКНТ, полученные в нашем исследовании, могут быть интерпретированы как истощение цитокинпродуцирующего резерва за счёт высокой спонтанной продукции цитокина

ЦИТОКИНПРОДУЦИРУЮЩИЙ РЕСУРС БИОПТАТОВ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Таблица 1. Значения ИВПА на продукцию цитокинов биоптатами опухолей пациентов с ИКНТ и НЗ молочной железы

Цитокины	I группа	II группа	p
	ИВПА в у.е. Me (25; 75)	ИВПА в у.е. Me (25; 75)	
IL-2	1,20 (0,78; 3,33)	1,28 (1,00; 6,00)	0,317
IL-6	1,90 (0,97; 2,73)	1,47 (1,04; 2,35)	0,545
IL-8	1,60 (1,00; 3,06)	1,15 (1,00; 2,28)	0,216
IL-10	1,00 (0,70; 2,90)	1,22 (0,71; 3,46)	0,847
IL-17	1,19 (0,87; 3,91)	2,38 (1,00; 4,95)	0,050*
IL-18	1,49 (0,88; 3,07)	2,47 (1,24; 3,87)	0,035*
IL-1β	5,34 (1,46; 18,14)	7,69 (1,98; 24,53)	0,432
IL-1Ra	1,05 (0,83; 2,27)	1,30 (0,81; 2,51)	0,416
TNF-α	1,40 (0,70; 4,72)	2,48 (1,24; 7,05)	0,017*
IFN-γ	1,01 (0,71; 2,67)	1,00 (0,80; 3,57)	0,409
G-CSF	1,42 (0,96; 4,49)	1,63 (1,02; 6,59)	0,339
GM-CSF	2,30 (1,02; 6,66)	3,64 (1,15; 9,56)	0,211
VEGF	0,76 (0,42; 1,23)	0,77 (0,36; 1,00)	0,445
MCP-1	1,02 (0,54; 2,10)	1,04 (0,87; 1,92)	0,425
IL1β/IL1Ra	3,18 (1,58; 8,81)	6,85 (1,55; 16,51)	0,277

Примечание. Здесь и в таблицах 2-4: * – статистически значимые различия при $p < 0,05$, определённые при помощи непараметрического критерия Уилкоксона-Манна-Уитни.

Таблица 2. Значения ИВПА на продукцию цитокинов биоптатами опухолей пациентов с ИКНТ и фиброаденомой молочной железы

Цитокины	I группа	IIa группа	p
	ИВПА в у.е. Me (25; 75)	ИВПА в у.е. Me (25; 75)	
IL-2	1,20 (0,78; 3,33)	1,28 (0,77; 3,80)	0,976
IL-6	1,90 (0,97; 2,73)	1,49 (1,06; 2,28)	0,533
IL-8	1,60 (1,00; 3,06)	1,12 (1,03; 2,11)	0,181
IL-10	1,00 (0,70; 2,90)	1,22 (0,63; 2,59)	0,819
IL-17	1,19 (0,87; 3,91)	2,68 (1,03; 4,58)	0,077
IL-18	1,49 (0,88; 3,07)	2,82 (1,60; 3,83)	0,018*
IL-1β	5,34 (1,46; 18,14)	17,22 (6,19; 33,15)	0,019*
IL-1Ra	1,05 (0,83; 2,27)	1,28 (0,94; 2,15)	0,682
TNF-α	1,40 (0,70; 4,72)	2,86 (1,85; 8,68)	0,033*
IFN-γ	1,01 (0,71; 2,67)	1,06 (0,95; 2,77)	0,543
G-CSF	1,42 (0,96; 4,49)	1,08 (1,02; 4,53)	0,867
GM-CSF	2,30 (1,02; 6,66)	3,82 (2,06; 9,56)	0,149
VEGF	0,76 (0,42; 1,23)	0,67 (0,20; 0,99)	0,114
MCP-1	1,02 (0,54; 2,10)	1,03 (0,86; 1,30)	0,779
IL1β/IL1Ra	3,18 (1,58; 8,81)	12,85 (4,59; 23,50)	0,006*

как клетками опухоли, так и клетками микроокружения. Аналогичный эффект мы наблюдали при сравнении ИВПА на продукцию TNF-α, который в небольшом количестве продуцируется нормальными эпителиальными клетками молочной железы, но в значительном – клетками злокачественных опухолей молочной железы. У таких лиц повышенная экспрессия TNF-α находилась в прямой корреляции с рецидивом и прогрессированием заболевания [17].

В таблице 2 представлены результаты исследования цитокинпродуцирующего ресурса биоптатов опухолей пациентов с ИКНТ и пациентов

с доброкачественными заболеваниями молочной железы, в которую были включены только пациенты с фиброаденомой (группа IIa).

Как видно из таблицы 2, рассматриваемые группы статистически значимо отличались по трём показателям ИВПА – на продукцию IL-18, TNF-α и IL-1β, а также по соотношению IL1β/IL1Ra. Необходимо отметить, что значения ИВПА на продукцию IL-18 и TNF-α были выше у пациентов с фиброаденомой, также как и при сравнении ИВПА I и II групп (табл. 1), что обусловлено, как указывалось выше, уровнями спонтанной продукции клетками опухоли и её микроокружения.

Известно, что IL-1 β играет существенную роль в образовании и прогрессировании опухоли, что определяется балансом между IL-1 β и IL-1Ra. Например, в исследовании Nutter и соавт. более высокая концентрация IL-1 β в крови была связана с плохим прогнозом рака молочной железы [18, 19]. IL-1 β в небольшом количестве продуцируется в лейкоцитах и в нормальных клетках эпителиального протока молочной железы у лиц с доброкачественными опухолями и максимально – у пациентов с ИКНТ [4]. Исследования Soria и соавт. показывают, что способность к продукции IL-1 β была приобретена эпителиальными клетками молочной железы при их злокачественной трансформации [4].

Так как выделение из группы II в самостоятельную группу больных (IIa) с фиброаденомой привело к выявлению статистически значимых различий по ИВПА на продукцию IL-1 β и по соотношению IL1 β /IL1Ra, которые не были обнаружены ранее, представляло интерес сравнение цитокинпродуцирующего ресурса опухолей в группах I и IIб (табл. 3). Группа IIб включала в себя пациентов с листовидной фиброаденомой, фиброаденоматозом, фиброзно-кистозной мастопатией, внутрипротоковым папилломатозом, склерозирующим аденозом и фиброзно-кистозной мастопатией с микрокальцинатами, которые некоторые исследователи относят к предраковым изменениям в молочной железе [6, 20, 21]. Мы обозначили этих пациентов как группу IIб с условно предраковыми изменениями.

Как видно из таблицы 3, статистически значимых различий в сравниваемых группах пациентов по ИВПА получено не было. Следовательно, при исключении из группы II фиброаденомы исчезают статистически значимые различия, которые ранее были получены между I и II группами по ИВПА на продукцию IL-17, IL-18 и TNF- α , что, скорее всего, может свидетельствовать о наличии клеточной атипии

и начале формирования опухолевого микроокружения у пациентов IIб группы.

Поэтому, особый интерес представляло сравнение показателей ИВПА на продукцию цитокинов биоптатами группы пациентов с фиброаденомой (IIa) с показателями ИВПА на продукцию цитокинов биоптатами пациентов с условно предраковыми изменениями в молочной железе, согласно выше указанным литературным данным (IIб) (табл. 4).

Как видно из таблицы 4, рассматриваемые группы статистически значимо отличались по показателю ИВПА – на продукцию IL-1 β , а также по соотношению IL1 β /IL1Ra которое зависело от продукции IL-1 β . Причём значение ИВПА на продукцию IL-1 β было более высоким у пациентов IIa группы. Следовательно, биоптаты пациентов этой группы реагировали на ПА повышением продукции этого цитокина, по сравнению с биоптатами пациентов IIб группы. Значение ИВПА на продукцию IL-1 β можно использовать в качестве дифференциально-диагностического маркера между фиброаденомой и условно предраковыми изменениями молочной железы, основываясь на том, что способность к продукции IL-1 β приобретается эпителиальными клетками молочной железы при их злокачественной трансформации [18, 19], а также на высокой статистической значимости различий ($p=0,004$) показателей ИВПА между этими группами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведённое исследование позволило выявить особенности цитокинпродуцирующего ресурса биоптатов опухолей у пациентов с ИКНТ, доброкачественными опухолями и с изменениями в молочной железе, которые ряд исследователей относят к предраковым изменениям молочной железы. Эти изменения включают более низкие значения ИВПА для IL-17, IL-18 и TNF- α у пациентов с ИКНТ по сравнению с пациентами, отнесёнными

Таблица 3. Значения ИВПА на продукцию цитокинов биоптатами опухолей пациентов с ИКНТ и НЗ, исключая фиброаденому

Цитокины	I группа	IIб группа	p
	ИВПА в у.е. Me (25; 75)	ИВПА в у.е. Me (25; 75)	
IL-2	1,20 (0,78; 3,33)	2,55 (1,00; 11,05)	0,083
IL-6	1,90 (0,97; 2,73)	1,45 (0,96; 3,71)	0,794
IL-8	1,60 (1,00; 3,06)	1,40 (0,96; 3,03)	0,648
IL-10	1,00 (0,70; 2,90)	1,74 (0,71; 5,43)	0,543
IL-17	1,19 (0,87; 3,91)	1,10 (1,00; 66,90)	0,271
IL-18	1,49 (0,88; 3,07)	1,48 (1,00; 6,34)	0,496
IL-1 β	5,34 (1,46; 18,14)	2,15 (1,06; 6,12)	0,119
IL-1Ra	1,05 (0,83; 2,27)	1,86 (0,66; 3,41)	0,380
TNF- α	1,40 (0,70; 4,72)	2,27 (1,11; 6,97)	0,150
IFN- γ	1,01 (0,71; 2,67)	0,98 (0,74; 8,25)	0,514
G-CSF	1,42 (0,96; 4,49)	2,76 (1,02; 20,25)	0,156
GM-CSF	2,30 (1,02; 6,66)	3,08 (1,00; 9,56)	0,726
VEGF	0,76 (0,42; 1,23)	0,96 (0,48; 1,68)	0,520
MCP-1	1,02 (0,54; 2,10)	1,50 (0,96; 2,62)	0,314
IL1 β /IL1Ra	3,18 (1,58; 8,81)	2,46 (0,36; 7,73)	0,122

ЦИТОКИНПРОДУЦИРУЮЩИЙ РЕСУРС БИОПТАТОВ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Таблица 4. Значения ИВПА на продукцию цитокинов биоптатами опухолей пациентов с условно предраковыми изменениями и фиброаденомой молочной железы

Цитокины	IIa группа	IIb группа	p
	ИВПА в у.е. Ме (25; 75)	ИВПА в у.е. Ме (25; 75)	
IL-2	1,28 (0,77; 3,80)	2,55 (1,00; 11,05)	0,117
IL-6	1,49 (1,06; 2,28)	1,45 (0,96; 3,71)	0,972
IL-8	1,12 (1,03; 2,11)	1,40 (0,96; 3,03)	0,462
IL-10	1,22 (0,63; 2,59)	1,74 (0,71; 5,43)	0,441
IL-17	2,68 (1,03; 4,58)	1,10 (1,00; 66,90)	0,750
IL-18	2,82 (1,60; 3,83)	1,48 (1,00; 6,34)	0,319
IL-1 β	17,22 (6,19; 33,15)	2,15 (1,06; 6,12)	0,004*
IL-1Ra	1,28 (0,94; 2,15)	1,86 (0,66; 3,41)	0,576
TNF- α	2,86 (1,85; 8,68)	2,27 (1,11; 6,97)	0,382
IFN- γ	1,06 (0,95; 2,77)	0,98 (0,74; 8,25)	0,972
G-CSF	1,08 (1,02; 4,53)	2,76 (1,02; 20,25)	0,172
GM-CSF	3,82 (2,06; 9,56)	3,08 (1,00; 9,56)	0,552
VEGF	0,67 (0,20; 0,99)	0,96 (0,48; 1,68)	0,132
MCP-1	1,03 (0,86; 1,30)	1,50 (0,96; 2,62)	0,263
IL1 β /IL1Ra	12,85 (4,59; 23,50)	2,46 (0,36; 7,73)	0,005*

патоморфологом к группе с НЗ, которая не являлась однородной. У пациентов с ИКНТ значения ИВПА на продукцию провоспалительных цитокинов IL-18, TNF- α , IL-1 β и соотношение IL1 β /IL1Ra были статистически значимо ниже, чем у пациентов с фиброаденомой (группа IIa). Существенным является и то, что статистически значимых различий в группах пациентов с диагнозом ИКНТ и группой пациентов с незлокачественными заболеваниями молочной железы, исключая фиброаденому, по ИВПА на продукцию изученных цитокинов получено не было. Это позволяет отнести этих пациентов к условно предраковым заболеваниям, о чём может свидетельствовать и то, что у пациентов с условно предраковыми изменениями показатели ИВПА на продукцию IL-1 β , а также по соотношению IL1 β /IL1Ra, были статистически значимо ниже, чем у пациентов с фиброаденомой молочной железы.

Как известно, появление атипичных клеток, избежавших контроля иммунной системы, и их накопление, достигающее критической массы – опухоли, – приводит к формированию вокруг неё параканкрозного воспаления и, в конечном счёте, к появлению уже клинически диагностируемой злокачественной опухоли [23]. Поскольку цитокины являются сигнальными молекулами иммунной системы, то определение показателей цитокинпродуцирующего ресурса может выступать в роли маркера возникновения атипичии и малигнизации.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все исследования были проведены в соответствии с Хельсинской декларацией [10]. Каждому пациенту была предоставлена информация о проведении исследований, его цели и методах. От каждого пациента получено информированное согласие на проведение исследования и получения образцов биоптатов опухолей, подписанное самим пациентом

и заверенное врачом. Этический комитет Научно-исследовательского института молекулярной биологии и биофизики подразделения Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины (г. Новосибирск) дал разрешение на проведение этого исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Fabre J., Giustiniani J., Garbar C., Antonicelli F., Merrouche Y., Bensussan A., Bagot M., Al-Dacak R. (2016) *Int. J. Mol. Sci.*, **17**(9), 1433.
2. Joyce J.A., Fearon D.T. (2015) *Science*, **348**, 74-80.
3. Quail D.F., Bowman R.L., Akkari L., Quick M.L., Schuhmacher A.J., Huse J.T., Holland E.C., Sutton J.C., Joyce J.A. (2016) *Science*, **352**, 6288.
4. Soria G., Ofri-Shahak M., Haas I., Yaal-Hahoshen N., Leider-Trejo L., Leibovich-Rivkin T., Weitzenfeld P., Meshel T., Shabtai E., Gutman M., Ben-Baruch A. (2011) *BMC Cancer*, **11**, 130. DOI: 10.1186/1471-2407-11-130.
5. Bowman R.L., Joyce J.A. (2014) *Immunotherapy*, **6**, 663-666.
6. 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. (2015) *Breast Cancer Res. Treat.*, **1**(149), 237-244.
7. Posso M., Corominas J.M., Serrano L., Roman M., Torá-Rocamora I., Domingo L., Romero A., Quintana M.J., Vernet-Tomas M., Baré M., Vidal C., Sánchez M., Saladié F., Natal C., Ferrer J., Servitja S., Sala M., Castells X. (2017) *Cancer Med.*, **6**, 1482-1509.
8. Salamat F., Niakan B., Keshtkar A., Rafiei E., Zendehtdel M. (2018) *Iran. J. Med. Sci.*, **43**(4), 355-364.
9. Zendehtdel M., Niakan B., Keshtkar A., Rafiei E., Salamat F. (2018) *Iran. J. Med. Sci.*, **43**(1), 1-8.
10. World Medical Association (2013) World medical association Declaration of Helsinki: Ethical principles for medical research involving human subjects association. *JAMA*, **310**, 2191-2194.

11. Autenshlyus A., Arkhipov S., Mikhailova E., Marinkin I., Arkhipova V., Mogilnaya E., Varaksin N., Rukavishnikov M. (2017) *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.*, **30**(3), 308-314.
12. Freeman A.E., Hoffman R.M. (1986) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**(8), 2694-2698.
13. Yang B., Kang H., Fung A., Zhao H., Wang T., Ma D. (2014) *Mediat. Inflamm.*, **2014**, 623759. DOI: 10.1155/2014/623759.
14. Lyon D.E., McCain N.L., Walter J., Schubert C. (2008) *Nurs. Res.*, **57**, 51-58.
15. Park I.H., Yang H.N., Lee K.J., Kim T.S., Lee E.S., Jung S.Y., Kwon Y., Kong S.Y. (2017) *Oncotarget*, **8**(20), 32722-32730.
16. Yasuda K., Nakanishi K., Tsutsui H. (2019) *Int. J. Mol. Sci.*, **20**(3), 649.
17. Katanov C., Lerrer S., Liubomirski Y., Leider-Trejo L., Meshel T., Bar J., Feniger-Barish R., Kamer I., Soria-Artzi G., Kahani H., Banerjee D., Ben-Baruch A. (2015) *Stem. Cell. Res. Ther.*, **6**(1), 87.
18. Tulotta C., Ottewill P. (2018) *Endocrine-Related Cancer*, **25**(7), 421-434.
19. Nutter F., Holen I., Brown H.K., Cross S.S., Evans C.A., Walker M., Coleman R.E., Westbrook J.A., Selby P.J., Brown J.E., Ottewill P.D. (2014) *Endocrine-Related Cancer*, **21**, 327-341.
20. 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. (2015) *Breast Cancer Res. Treat.*, **3**(152), 687-694.
21. 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. (2014) *Breast Cancer Res. Treat.*, **1**(144), 205-212.
22. Al-Zhoughbi W., Huang J., Paramasivan G.S. (2014) *Semin. Oncol.*, **41**(2), 281-295.

Поступила в редакцию: 06. 03. 2019.
После доработки: 05. 08. 2019.
Принята к печати: 27. 08. 2019.

ASSESSMENT OF THE CYTOKINE-PRODUCING RESOURCE OF TUMOR BIOPSY SAMPLES FROM PATIENTS WITH INVASIVE CARCINOMA OF NO SPECIAL TYPE AND WITH NON-MALIGNANT BREAST DISEASES

A.I. Autenshlyus^{1,2*}, A.A. Studenikina¹, A.V. Bernado¹, E.S. Mikhailova^{1,2},
A.V. Proskura², S.V. Sidorov⁴, N.A. Varaksin³, V.V. Lyakhovich²

¹Novosibirsk State Medical University,

52 Krasnyi ave., Novosibirsk, 630091 Russia; e-mail: lpciip@211.ru

²Institute of Molecular Biology and Biophysics, 2/12 Timakov str., Novosibirsk, 630117 Russia

³JSC "Vector-Best", Koltsovo, Novosibirsk Region, 630559 Russia

⁴Novosibirsk State University, 2 Pirogova str., Novosibirsk, 630090 Russia

Breast cancer, in most cases, is a malignant neoplasm associated with infiltration of a tumor with the cells that form its microenvironment and produce various cytokines. The aim of the study was to evaluate the cytokine-producing function of tumor cells and their microenvironment in biopsy specimen of patients with invasive carcinoma of no special type and in patients with benign breast diseases. To assess the cytokine-producing activity of the tumor and its microenvironment, the index of polyclonal activators influence on cytokine production by biopsy specimens of patients with invasive carcinoma of no special type (group I) and in patients with benign breast tumors (group II) was calculated. Group II was further subdivided into group Ia, which included only patients with fibroadenoma, and group Iib, which included the patients with leaf-shaped fibroadenoma, fibroadenomatosis, fibrocystic mastopathy, intraductal papillomatosis, sclerosing adenosis and fibrocystic mastopathy with microcalcifications. The concentrations of IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IL-18, IL-1 β , IL-1Ra, TNF- α , IFN- γ , G-CSF, GM-CSF, VEGF, and MCP-1 were measured in tumor biopsy supernatants. When comparing groups I and II, higher indices of the polyclonal activators influence on the production of IL-17, IL-18 and TNF- α were observed in patients with benign diseases. Higher indices of the polyclonal activators influence on the production of IL-18, TNF- α , and IL-1 β and the ratio of IL1 β /IL1Ra were observed in patients with fibroadenoma as compared to those with invasive carcinoma of no special type. There were no significant differences in the indices of the polyclonal activators influence between groups I and Iib. This suggests the existence of changes in the mammary gland in patients of group Iib similar to those present in patients with invasive carcinoma of no special type. Higher indices of polyclonal activators influence on the production of IL-1 β , as well as the ratio of IL1 β /IL1Ra were observed in the patients of group Ia compared to the patients of group Iib. The results of the study identify the features of the cytokine-producing resource of tumor biopsy specimens in patients with invasive carcinoma of no special type and with benign breast tumors.

Key words: cytokines; microenvironment of tumor; mammary gland pathologies

Received: 06.03.2019, revised: 05.08.2019, accepted: 27.08.2019.