

## КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

©Коллектив авторов

### ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ЦИТОКИНАМИ СУПЕРНАТАНТОВ И ЭКСПРЕССИЕЙ МАРКЁРОВ ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНОГО ПЕРЕХОДА БИОПТАТОВ ИНВАЗИВНОЙ КАРЦИНОМЫ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ТИПА ПРИ ЛИМФОГЕННОМ МЕТАСТАЗИРОВАНИИ

*А.И. Аутенилюс<sup>1,2\*</sup>, А.А. Студеникина<sup>1</sup>, С.А. Архипов<sup>1,2</sup>, К.И. Давлетова<sup>1</sup>,  
И.П. Журавовский<sup>1,2</sup>, А.В. Проскура<sup>2</sup>, Н.А. Вараксин<sup>2</sup>, В.В. Ляхович<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Новосибирский государственный медицинский университет,  
630091, Новосибирск, Красный пр., 52; \*эл. почта: lrciir@211.ru

<sup>2</sup>Институт молекулярной биологии и биофизики – структурное подразделение  
федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины,  
630117, Новосибирск, ул. Тимакова, 2/12

<sup>3</sup>АО “Вектор-Бест”, 630559, Новосибирская область, р. п. Кольцово, Научно-производственная зона, корп. 36

Изучена взаимосвязь между содержанием цитокинов супернатантов и экспрессией в биоптатах инвазивной карциномы молочной железы неспецифического типа маркёров эпителиально-мезенхимального перехода при наличии (II группа) и отсутствии (I группа) лимфогенного метастазирования. Определяли концентрацию TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , G-CSF, GM-CSF, VEGF, MCP-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IL-18, IL-1 $\beta$  и IL-1Ra, а также экспрессию иммуно-гистохимических (ИГХ) маркёров эпителиально-мезенхимального перехода – кадгерина-E (CDH1),  $\beta$ -1-интегрин (CD29) и коллагена II типа (CII). По результатам исследования пациенты этих групп статистически значимо отличались по спонтанной продукции IL-18 и G-CSF, по индексу влияния поликлонального активатора на продукцию G-CSF. При изучении взаимосвязи между продукцией цитокинов супернатантами и экспрессией в них ИГХ маркёров установлено, что корреляционные связи между показателем экспрессии CII в ткани опухоли и продукцией цитокинов биоптатами опухоли характерны для всех пациентов с инвазивной карциномой неспецифического типа, а корреляционные связи, как прямые, так и обратные между показателями экспрессии CDH1, CD29 и продукцией цитокинов, различались в зависимости от наличия или отсутствия лимфогенного метастазирования. Проведенное исследование позволило выявить особенности корреляционных связей между продукцией цитокинов опухолью, её микроокружением и экспрессией ИГХ – маркёров эпителиально-мезенхимального перехода у пациентов с инвазивной карциномой молочной железы неспецифического типа при наличии и отсутствии лимфогенного метастазирования.

**Ключевые слова:** цитокины; маркёры эпителиально-мезенхимального перехода; метастазы; рак молочной железы

**DOI:** 10.18097/PBMC20206601083

## ВВЕДЕНИЕ

При онкогенезе опухолевые клетки приобретают веретенообразную форму, теряют адгезивные свойства и повышают свою подвижность, что, в конечном счёте, обуславливает их инвазивную способность [1-3]. Кроме того, клетки микроокружения опухоли, в том числе иммунокомпетентные клетки, фибробласты, фиброциты, эпителиоциты, продуцируют цитокины, которые могут способствовать метастазированию. Например, TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$  совместно индуцируют эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП) и связанную с ним экспансию опухолевых клеток в ткани молочной железы и инициацию метастазирования, а TGF $\beta$ , IL-10 и VEGF, секретируемые клетками опухоли и клетками микроокружения – регуляторными Т-клетками (Treg) и опухоль-ассоциированными макрофагами (TAMs), способствуют десмоплазии, ангиогенезу, лимфангиогенезу и ЭМП [4].

В нашей предыдущей работе в качестве маркёров ЭМП, помимо кадгерина-E (CDH1), определяли коллаген II типа (CII), который не характерен для эпителиальных клеток и обычно экспрессируется в мезенхимальных клетках,

и  $\beta$ -1-интегрин (CD29), экспрессирующий как в нормальных клетках, так и в клетках злокачественных опухолей молочной железы [5]. Прогрессирование рака молочной железы сопровождается перестройкой микроокружения, которое характеризуется отложением коллагена в межклеточном пространстве. Выработка коллагена сопровождается ремоделированием и уплотнением коллагеновых волокон, что повышает устойчивость раковых клеток к протеолитической деградации и имеет большое значение для злокачественной прогрессии [2]. Интегрины вовлечены во многие процессы, связанные с адгезией опухолевых клеток к внеклеточному матриксу, включая миграцию, инвазию и метастазирование [6]. При исследовании рака молочной железы Yin и соавт. обнаружили, что высокая экспрессия CD29 коррелирует с низкими показателями выживаемости и прогрессирующим метастатическим статусом [7]. CDH1 – классический биомаркёр ЭМП – присутствует в мембране эпителиальных клеток, поддерживает межклеточную адгезию. При пониженной экспрессии CDH1 разрушаются внутриклеточные соединения, и эпителиальные клетки приобретают

способность к миграции. Следовательно, снижение экспрессии CDH1 способствует инвазии опухоли и метастазированию [8]. Однако по данным Чжао и соавт., резэкспрессия CDH1 – это особенность опухолей, метастазирующих в отдалённые участки. Эти авторы обнаружили, что экспрессия CDH1 в метастатических участках была выше, чем в первичной опухоли [9].

Целью данной работы было изучение взаимосвязи между продукцией цитокинов биоптатами и экспрессией в них маркёров ЭМП при инвазивной карциноме молочной железы неспецифического типа при наличии и отсутствии лимфогенного метастазирования.

## МЕТОДИКА

Материалом служил постоперационный материал, а именно биоптаты опухоли 47 пациентов с инвазивной карциномой молочной железы неспецифического типа, средний возраст которых составил  $54 \pm 1,5$  года (от 23 до 71). На момент проведения исследования метастазы в регионарные лимфатические узлы присутствовали у 19 пациентов (II группа), средний возраст которых составил  $53 \pm 2,7$  года (от 23 до 69), в то время как у остальных 28 в среднем возрасте  $54 \pm 1,6$  года (от 38 до 71) лет – метастазы отсутствовали (I группа). В течение 30 дней от начала обследования всем больным было проведено операционное вмешательство, окончательный диагноз устанавливался врачом-онкологом и врачом-патологоанатомом. Ни у кого из пациентов не было обострения очагов хронической инфекции. Неоадьювантная (дооперационная) терапия ни одному из пациентов не проводилась.

Образцы опухолей объёмом 8 мм<sup>3</sup> получали методом трепанобиопсии и помещали в 2 флакона: в первом – для определения спонтанной продукции (СП) – часть биоптата инкубировали в питательной среде DMEM-F12 в объёме 1 мл, во втором – для определения индуцированной продукции (ИП) – в таком же объёме среды с комплексом полиактиваторов (ПА), состоящим из фитогемагглютинаина 4 мкг/мл, конканавалина А 4 мкг/мл и липополисахарида 2 мкг/мл (стандартный набор Стимул Бест, “Вектор-Бест”, Россия) [10]. Образцы инкубировали при 37°C в течение 72 ч, после чего клетки осаждали центрифугированием при 900 g, при 25°C в течение 15 мин. В супернатантах, после осаждения клеток, используя твердофазный иммуноферментный анализ, определяли концентрацию следующих цитокинов (чувствительность набора): TNF- $\alpha$  (1,0 пг/мл), IFN- $\gamma$  (2,0 пг/мл), G-CSF (2,0 пг/мл), GM-CSF (2,0 пг/мл), VEGF (10,0 пг/мл), MCP-1 (15,0 пг/мл), IL-2 (2,0 пг/мл), IL-4 (1,0 пг/мл), IL-6 (0,5 пг/мл), IL-8 (2,0 пг/мл), IL-10 (1,0 пг/мл), IL-17 (2,0 пг/мл), IL-18 (2,0 пг/мл), IL-1 $\beta$  (1,0 пг/мл) и IL-1Ra (10,0 пг/мл) с использованием наборов “Вектор-Бест”.

Влияние ПА на продукцию цитокинов биоптатами опухоли оценивали по индексу влияния поликлональных активаторов (ИБПА), выраженному

в условных единицах (у.е.), который высчитывали по формуле: ИБПА = А/Б, где А – концентрация цитокина при ИП, а Б – концентрация цитокина при СП. Значение ИБПА менее 1,2 у.е. свидетельствовало об отсутствии влияния ПА на продукцию цитокинов опухолью, а значение ИБПА, равное 1,2 и более (превышение на 20% и более) – о влиянии ПА на продукцию цитокинов [11].

Иммуно-гистохимическое исследование экспрессии СП, CD29 и CDH1 проводили на парафиновых срезах опухолей с использованием антител соответствующей специфичности и набора Vectastain Universal Elite ABC Kit (“Vector Laboratories”, США). При оценке использовали отношение количества клеток, экспрессирующих маркёр, к количеству клеток, не экспрессирующих маркёр, для СП и CD29, и обратное отношение – для CDH1.

Для статистической обработки результатов использовали программный пакет SPSS v 17.0 for Windows. При определении характера распределения данных применяли уравнение Колмогорова-Смирнова с определением поправки Лиллифорса. Поскольку распределение отличалось от нормального, проводили анализ с использованием непараметрического критерия Уилкоксона-Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Полученные в ходе исследования данные представлены как медиана (Me), верхний и нижний квартили (Q<sub>1</sub>, Q<sub>3</sub>). С целью обнаружения взаимосвязи между исследуемыми показателями проводили корреляционный анализ путём вычисления коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ показателей спонтанной продукции цитокинов клетками опухоли и её микроокружения у больных ИКНТ при наличии и отсутствии лимфогенного метастазирования выявил статистически значимые различия по концентрациям IL-18 ( $p = 0,040$ ) и G-CSF ( $p = 0,049$ ). При влиянии ПА на продукцию цитокинов биоптатами не было выявлено статистически значимых различий по их концентрации между исследуемыми группами (табл. 1).

Показатели СП указанных выше цитокинов в группе пациентов при наличии метастазов были выше, чем у пациентов без лимфогенного метастазирования. Несмотря на иммуностимулирующие свойства, IL-18 способствует прогрессированию рака и метастазированию [12]. IL-18 усиливает миграцию клеток в клеточных линиях рака желудка человека и опухолях кожи и увеличивает пролиферацию в клетках рака молочной железы [13]. Yang и соавт. показали, что IL-18 индуцирует миграцию клеток опухоли при раке молочной железы посредством регуляции экспрессии клаудина-12 и пути p38MAPK [14]. В исследовании Mouchemore и соавт. сообщалось о значительном повышении уровня сывороточного гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF) у больных со злокачественными новообразованиями по сравнению со здоровыми контрольными группами [15].

Таблица 1. Концентрация цитокинов (пг/мл) в супернатантах биоптатов опухолей пациентов с ИКНТ при наличии и отсутствии лимфогенного метастазирования при стимулировании ПА

Цитокины	СП		ПА	
	I группа n=28 (Me; Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> ) пг-мл	II группа n=19 (Me; Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> ) пг-мл	I группа n=28 (Me; Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> ) пг-мл	II группа n=19 (Me; Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> ) пг-мл
IL-2	2,0(2,0-5,0)	4,3(2,0-6,7)	3,2(2,0-5,8)	3,5(2,0-12,3)
IL-4	2,9(1,7-4,0)	2,7(1,9-6,5)	3,0(2,1-3,8)	3,0(1,5-4,9)
IL-6	208,0(56,8-524,8)	283,0(56,9-522,6)	520,2(225,4-691,5)	478,4(164,1-533,6)
IL-8	267,7(144,5-600,0)	403,8(285,6-620,5)	724,3(390,4-2122,0)	667,3(305,1-1362,6)
IL-10	5,2(1,0-11,8)	5,2(1,0-13,9)	8,0(1,0-13,9)	4,3(1,0-11,1)
IL-17	1,2(1,0-3,2)	1,7(1,0-2,4)	2,7(1,0-13,8)	1,0(1,0-4,0)
IL-18	22,4(10,6-74,5)*	56,3(29,3-204,2)*	50,3(11,1-106,4)	45,4(10,5-283,1)
IL-1β	20,7(10,7-70,2)	32,2(18,6-61,4)	47,6(22,3-160,9)	42,3(19,2-65,1)
IL-1Ra	2503,1(1265,4-3871,5)	3202,2(2622,3-4105,6)	1527,4(1281,4-3208,3)	2835,3(1258,7-3735,2)
TNFα	2,2(1,4-3,5)	2,9(1,1-4,5)	2,0(1,0-4,0)	1,7(1,0-4,8)
IFNγ	11,2(7,4-31,2)	12,5(5,1-18,7)	8,0(5,0-27,0)	7,3(5,0-33,0)
G-CSF	11,8(6,1-122,3)*	54,7(16,1-372,5)*	182,7(41,2-697,6)	275,9(7,8-1164,9)
GM-CSF	4,6(2,0-10,0)	8,6(2,1-11,6)	13,9(4,1-28,5)	10,2(2,2-35,2)
VEGF	2036,5(108,9-2585,9)	489,9(111,0-2213,8)	1107,5(173,4-2188,7)	562,3(123,6-1369,0)
MCP-1	297,5(182,0-1695,6)	299,1(169,1-507,0)	872,7(268,6-1716,2)	292,8(138,3-1124,6)

Примечание. Здесь и в таблицах 2 и 3 \* – статистически значимые различия при  $p < 0,05$  определённые при помощи непараметрического критерия Уилкоксона-Манна-Уитни.

Таблица 2. Индексы влияния поликлональных активаторов на продукцию цитокинов клетками опухоли и её микроокружения пациентов с ИКНТ при наличии и отсутствии лимфогенного метастазирования

Цитокины	I группа (n=28)	II группа (n=19)	p-критерий
	ИБПА в у.е. Me (Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> )	ИБПА в у.е. Me (Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> )	
IL-2	1,3(0,9-2,3)	1,0(0,7-1,5)	0,282
IL-4	1,0(0,8-1,6)	0,9(0,6-1,5)	0,253
IL-6	1,6(1,0-2,7)	1,1(0,9-3,6)	0,421
IL-8	2,0(1,0-11,8)	1,2(0,9-2,9)	0,204
IL-10	1,0(0,7-2,5)	1,0(0,6-1,6)	0,416
IL-17	1,6(1,0-8,3)	1,0(0,6-2,9)	0,055
IL-18	1,8(0,6-4,7)	1,0(0,3-1,5)	0,170
IL-1β	2,1(0,7-6,2)	1,0(0,5-2,2)	0,082
IL-1Ra	1,0(0,7-1,1)	0,9(0,4-1,0)	0,114
TNFα	1,0(0,5-1,9)	0,8(0,5-1,4)	0,504
IFNγ	1,0(0,5-1,6)	1,0(0,6-1,6)	0,801
G-CSF	7,7(1,0-47,3)	1,0(0,8-6,5)	0,033*
GM-CSF	1,2(1,0-4,3)	1,2(1,0-3,6)	0,594
VEGF	0,9(0,5-1,3)	1,0(0,4-1,5)	0,954
MCP-1	0,9(0,6-3,9)	1,0(0,4-2,1)	0,315

Hollmen и соавт. при исследовании G-CSF в опухолевых срезах у больных раком молочной железы обнаружили, что G-CSF экспрессировался на более высоких уровнях у пациентов с TNBC по сравнению с ER+, HER2+ или ER+HER2+ пациентами [16]. Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что IL-18 и G-CSF играют важную роль в метастазировании и патогенезе рака молочной железы.

Анализ значений ИБПА на продукцию цитокинов клетками опухоли и её микроокружения у больных ИКНТ при наличии и отсутствии лимфогенного

метастазирования показал статистически значимые различия по показателю G-CSF ( $p=0,033$ ). При этом показатель ИБПА этого фактора роста в I группе был в несколько раз выше, чем у пациентов II группы (табл. 2).

Это свидетельствует о том, что влияние ПА на продукцию G-CSF у пациентов с лимфогенным метастазированием было низким или даже отсутствовало (ИБПА ниже 1,2 у.е.) за счёт того, что спонтанная продукция у пациентов с лимфогенным метастазированием была статистически значимо выше, чем у пациентов без лимфогенного метастазирования.

## ЦИТОКИНЫ, МАРКЁРЫ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Исходя из полученных нами ранее данных, было решено изучить взаимосвязь между ИГХ маркёрами ЭМП: CDH1, CD29, CII и продукцией цитокинов опухолью и её микроокружением у пациентов с ИКНТ при наличии и отсутствии лимфогенного метастазирования. Пациенты исследуемых групп статистически значимо не отличались по показателям экспрессии маркёров ЭМП: CDH1 ( $p=0,603$ ), CD29 ( $p=0,201$ ) и CII ( $p=0,845$ ).

Однако при изучении взаимосвязи между продукцией цитокинов и экспрессией маркёров ЭМП при ИКНТ в целом была обнаружена умеренная обратная корреляционная связь между показателем экспрессии CII и СП: IL-18, IL-1 и MCP-1 ( $r=-0,401$ ,  $p=0,005$ ;  $r=-0,437$ ,  $p=0,002$ ;  $r=-0,428$ ,  $p=0,002$  соответственно), а также умеренная прямая корреляционная связь между показателем экспрессии CII и ИВПА: IL-8 и IL-18 ( $r=0,415$ ,  $p=0,004$ ;  $r=0,456$ ,  $p=0,001$  соответственно). В таблице 3 приведены результаты поиска взаимосвязей между показателями экспрессии маркёров ЭМП и продукцией цитокинов опухолью при разделении пациентов с ИКНТ на I и II группы.

Прежде всего необходимо отметить, что при выделении в отдельную группу пациентов без лимфогенного метастазирования были обнаружены умеренные корреляционные связи между показателем экспрессии маркёра ЭМП: прямая между CDH1 и концентрацией при ИП IL-6 и TNF- $\alpha$ , и с ИВПА на продукцию TNF- $\alpha$ ; обратная между CII и концентрацией при СП IL-18, IL-1 $\beta$  и MCP-1; прямая между CII и ИВПА на продукцию IL-6, IL-8, IL-18 и G-CSF.

У пациентов с лимфогенным метастазированием были обнаружены умеренные корреляционные связи между экспрессией маркёра ЭМП: прямая между CDH1 и с концентрацией при СП IL-17; обратная между CDH1

и концентрацией при СП IL-1Ra, и с ИВПА IL-17; прямая между CD29 и с концентрацией при ИП IL-6, IL-8, G-CSF, и с ИВПА IL-6, IL-1Ra, G-CSF, GM-CSF, VEGF; прямая между CII и с ИВПА IL-1 $\beta$ ; обратная между CII и концентрацией при СП IL-1 $\beta$  и MCP-1. Следовательно, обнаружены различия по корреляционным связям между маркёрами ЭМП и теми или иными показателями продукции цитокинов в зависимости от наличия или отсутствия лимфогенного метастазирования.

Обратная корреляционная связь между показателем экспрессии CII и концентрацией при СП IL-1 $\beta$  и MCP-1 характерна для пациентов с ИКНТ в целом, но она отсутствует у пациентов с лимфогенным метастазированием. Прямая корреляционная связь между показателем экспрессии CII и ИВПА на продукцию IL-8 и IL-18 характерна для всех пациентов с ИКНТ, однако при разделении пациентов на имеющих лимфогенное метастазирование и без него отмечается прямая корреляционная связь между показателем экспрессии CII и ИВПА на продукцию IL-6, IL-8, IL-18 и G-CSF, характерная для пациентов без лимфогенного метастазирования, а для пациентов с метастазами только по ИВПА IL-1 $\beta$ . Таким образом, корреляционные связи между показателем экспрессии CII и продукцией цитокинов опухолью и её микроокружением характерны для всех пациентов с ИКНТ, а корреляционные связи между показателями экспрессии CDH1, CD29 и продукцией цитокинов различны для пациентов при наличии и отсутствии лимфогенного метастазирования.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Метастазирование – это сложный и динамический процесс, на который влияют множество факторов, включая ЭМП опухоли и её микроокружение.

Таблица 3. Взаимосвязь между маркёрами ЭМП и продукцией цитокинов опухолью и её микроокружением у пациентов с ИКНТ при наличии и отсутствии лимфогенного метастазирования

показатели	I группа (n=28)			II группа (n=19)		
	Сравниваемые показатели	г-ранговая корреляция	р-критерий	Сравниваемые показатели	г-ранговая корреляция	р-критерий
СП	CII и IL-18	-0,441	0,019	CDH1 и IL-17	0,485	0,035
				CDH1 и IL-1Ra	-0,672	0,002
	CII и IL-1 $\beta$	-0,423	0,025	CII и IL-1 $\beta$	-0,496	0,031
	CII и MCP-1	-0,433	0,021	CII и MCP-1	-0,535	0,018
ИП	CDH1 и IL-6	0,486	0,009	CD29 и IL-6	0,568	0,011
				CD29 и IL-8	0,533	0,019
	CDH1 и TNF $\alpha$	0,456	0,015	CD29 и G-CSF	0,591	0,008
ИВПА	CDH1 и TNF $\alpha$	0,530	0,004	CDH1 и IL-17	-0,508	0,026
				CD29 и IL-6	0,483	0,036
	CII и IL-6	0,463	0,013	CD29 и IL-1Ra	0,530	0,019
				CD29 и G-CSF	0,476	0,039
	CII и IL-8	0,629	0,001	CD29 и GM-CSF	0,464	0,045
	CII и IL-18	0,477	0,010	CD29 и VEGF	0,480	0,038
	CII и G-CSF	0,526	0,004	CII и IL-1 $\beta$	0,522	0,022

Цитокины, продуцируемые и секретируемые клетками микроокружения опухоли, могут способствовать ЭМП и метастазированию [4]. Проведенное исследование позволило выявить наличие и особенности корреляционных связей между продукцией цитокинов опухолью, её микроокружением и экспрессией маркёров ЭМП у пациентов с ИКНТ при наличии и отсутствии лимфогенного метастазирования. В данной работе было определено, что корреляционные связи между показателем экспрессии СП и продукцией цитокинов опухолью характерны для всех пациентов с ИКНТ, а корреляционные связи между показателями экспрессии CDH1, CD29 и продукцией цитокинов различны для пациентов при наличии и отсутствии лимфогенного метастазирования.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Финансирование исследования за счёт государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации (№ АААА-А18-118030790008-7).

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все исследования были проведены в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации. От каждого пациента получено информированное согласие на проведение исследования и получение образцов биоптатов опухолей, подписанное самим пациентом и заверенное врачом. Исследование одобрено комитетом по этике Научно-исследовательского института молекулярной биологии и биофизики подразделения Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Felipe Lima J., Nofech-Mozes S., Bayani J., Bartlett J.M. (2016) J. Clin. Med., **5**(7), 65.
2. Franchi M., Masola V., Bellin G., Onisto M., Karamanos K.A., Piperigkou Z. (2019) J. Clin. Med., **8**(2), 213.
3. Smith B.N., Bhowmick N.A. (2016) J. Clin. Med., **5**(2), 17.
4. Karlsson M.C., Gonzalez S.F., Welin J., Fuxe J. (2017) Molecular Oncology, **11**(7), 781-791.
5. Аутенилюс А.И., Голованова А.В., Студеникина А.А., Брусенцов И.И., Проскура А.В., Жураковский И.П., Архипов С.А., Сидоров С.В., Вавилин В.А., Ляхович В.В. (2019) Доклады академии наук, **484**(5), 624-628. [Autenshlyus A.I., Golovanova A.V., Studenikina A.A., Brusentsov I.I., Proskura A.V., Zhurakovskiy I.P., Arkhipov S.A., Sidorov S.V., Vavilin V.A., Lyakhovich V.V. (2019) Doklady akademii nauk, **484**(5), 624-628.]
6. Naci D., Vuori K., Aoudjit F. (2015) Semin. Cancer Biol., **35**, 145-153.
7. Yin H.L., Wu C.C., Lin C.H., Chai C.Y., Hou M.F., Chang S.J., Tsai H.P., Hung W.C., Pan M.R., Luo C.W. (2016) Cancer Int. J. Mol. Sci., **17**(9), 1432.
8. Li Z., Yin S., Zhang L., Liu W., Chen B. (2017) Oncotarget., **8**(10), 16445-16455.
9. Chao Y.L., Shepard C.R., Wells A. (2010) Mol. Cancer, **9**, 179.
10. Freeman A.E., Hoffman R.M. (1986) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **83**(8), 2694-2698.
11. Соснина А.В., Михайлова Е.С., Морозов Д.В., Аутенилюс А.И., Вараксин Н.А., Шпагина Л.А., Воробьева Е.Е., Ракитина Т.В., Липкин В.М. (2015) Медицинская иммунология, **17**(2), 135-140. [Sosnina A.V., Mikhailova E.S., Morozov D.V., Autenshlyus A.I., Varaksin N.A., Shpagina L.A., Vorobyeva E.E., Rakitina T.V., Lipkin V.M. (2015) Medical Immunology (Russia), **17**(2), 135-140.]
12. Соснина А.В., Великая Н.В., Вараксин Н.А., Гришаев М.П., Аутенилюс А.И. (2014) Роль цитокинов в патогенезе злокачественных новообразований. Новосибирск: Офсет, 128 с. [Sosnina A.V., Velikaya N.V., Varaksin N.A., Grishaev M.P., Autenshlyus A.I. (2014) The role of cytokines in the pathogenesis of malignant neoplasms. Novosibirsk: Offset, 128 p.]
13. Park S., Yoon S.Y., Kim K.E., Lee H.R., Hur D.Y., Song H., Kim D., Bang S.I., Cho D.H. (2009) Cancer Lett., **286**(2), 189-195.
14. Yang Y., Cheon S., Jung M.K., Song S.B., Kim D., Kim H.J., Park H., Bang S.I., Cho D. (2015) Biochem. Biophys. Res. Commun., **459**(3), 379-386.
15. Mouchemore K.A., Anderson R.L., Hamilton J.A. (2017) FEBS J., **285**(4), 665-679.
16. Hollmén M., Karaman S., Schwager S., Lisibach A., Christiansen A.J., Maksimow M., Varga Z., Jalkanen S., Detmar M. (2015) Oncoimmunology, **5**(3), e1115177. DOI:10.1080/2162402X.2015.1115177.

Поступила в редакцию: 05. 11. 2019.  
После доработки: 28. 12. 2019.  
Принята к печати: 30. 12. 2019.

RELATIONSHIP BETWEEN SUPERNATANT CYTOKINES AND EXPRESSION OF MARKERS  
OF EPITHELIAL-MESENCHYMAL TRANSITION OF INVASIVE BREAST CARCINOMA  
OF NON-SPECIFIC LYMPHONOSIS TYPE

*A.I. Autenshlyus<sup>1,2\*</sup>, A.A. Studenikina<sup>1</sup>, S.A. Arkhipov<sup>1,2</sup>, K.I. Davletova<sup>1</sup>,  
I.P. Zhurakovsky<sup>1,2</sup>, A.V. Proskura<sup>2</sup>, N.A. Varaksin<sup>3</sup>, V.V. Lyakhovich<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Novosibirsk State Medical University,  
52 Krasny ave., Novosibirsk, 630091 Russia; \*e-mail: lpciip@211.ru

<sup>2</sup>Institute of Molecular Biology and Biophysics -  
subdivision of Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine,  
2/12 Timakova str., Novosibirsk, 630117 Russia

<sup>3</sup>JSC “Vector-Best”, Nauchno-proizvodstvennaja zona, 36, Koltsovo, Novosibirsk region, 630559 Russia

The relationship between the content of supernatant cytokines and the expression of non-specific type of markers of epithelial-mesenchymal transition markers in the presence (group II) and the absence of lymphogenous metastasis (group I) were studied in biopsy specimens of mammary invasive breast carcinoma. The concentrations of TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , G-CSF, GM-CSF, VEGF, MCP-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IL-18, IL-1 $\beta$  and IL-1Ra, as well as the expression of immunohistochemical (IHC) markers of the epithelial-mesenchymal transition – cadherin-E (CDH1),  $\beta$ -1 integrin (CD29) and type II collagen (CII) were assayed. Results have shown that patients of these groups statistically significantly differed in spontaneous production of IL-18 and G-CSF, in terms of the index of the effect of the polyclonal activator on G-CSF production. There was a correlation between the parameter of CII expression in tumor tissue and the production of cytokines by tumor biopsy specimens; it was characteristic of all patients with invasive carcinoma of a non-specific type, and correlations, both direct and reverse between the expression indices of CDH1, CD29 and cytokine production varied depending on the presence or the absence of lymphogenous metastasis. The study revealed the features of the correlation between the production of cytokines by the tumor, its microenvironment and the expression of IHC markers of the epithelial-mesenchymal transition in patients with invasive non-specific breast carcinoma in the presence and absence of lymphogenous metastasis.

**Key words:** cytokines; markers of the epithelial-mesenchymal transition; metastases; breast cancer

**Fundng.** This research was financed by the state assignment of Ministry of Health of the Russian Federation (№ AAAA-A18-118030790008-7).

Received: 05.11.2019, revised: 28.12.2019, accepted: 30.12.2019.