

УДК 612.018:616-097.3:618.19-006

## СОДЕРЖАНИЕ ПОЛОВЫХ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ И СООТВЕТСТВУЮЩИХ СПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН И БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

<sup>1,2</sup>Глушков А.Н., <sup>1</sup>Поленок Е.Г., <sup>2</sup>Костянко М.В., <sup>3</sup>Антонов А.В.,

<sup>4</sup>Верзбицкая Н.Е., <sup>5</sup>Вафин И.А., <sup>5</sup>Рагожина С.Е., <sup>5</sup>Каменских Н.А.

<sup>1</sup>ФГБУН «Институт экологии человека» Сибирского отделения РАН, Кемерово, e-mail: ihe@list.ru;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВПО «Кемеровский государственный университет», Кемерово, e-mail: ihe@list.ru;

<sup>3</sup>ГБУЗ КО «Областной клинический онкологический диспансер»,

Кемерово, e-mail: 05-guz-okod@kuzdrav.ru;

<sup>4</sup>ГБУЗ КО ОТ «Кемеровское областное патологоанатомическое бюро»,

Кемерово, e-mail: keu-73@mail.ru;

<sup>5</sup>ГКУЗ КО «Кемеровский областной центр крови», Кемерово, e-mail: stpk@kuzdrav.ru

Исследовали содержание стероидных гормонов (эстрадиола, прогестерона) и специфических антител в сыворотке крови у 65 здоровых женщин и у 74 больных раком молочной железы в постменопаузе. Цель работы – выявить взаимосвязь между концентрацией стероидных гормонов и уровнем специфических антител в норме и при патологии. Впервые выявлены прямые корреляционные взаимосвязи между содержанием стероидных гормонов и соответствующих специфических антител. Эти взаимосвязи оказались наиболее выраженными у здоровых женщин. У больных раком молочной железы взаимосвязи между содержанием эстрадиола и уровнями антител к эстрадиолу сохранились, а между содержанием прогестерона и уровнями антител к прогестерону отсутствовали. Вероятно, на взаимодействие прогестерона и антител к прогестерону в сыворотке крови оказывают влияние соответствующие анти-идиотипические антитела, исследование которых еще предстоит выполнить. Таким образом, ранее высказанное предположение о влиянии антител к стероидным эндобiotикам, образующимся в естественных условиях, на биологические функции последних получило первое подтверждение.

**Ключевые слова:** рак молочной железы, антитела, бензо[а]пирен, эстрадиол, прогестерон

## THE LEVELS OF SEX STEROID HORMONES AND THE CORRESPONDING SPECIFIC ANTIBODIES IN THE SERUM OF HEALTHY WOMEN AND BREAST CANCER PATIENTS

<sup>1,2</sup>Glushkov A.N., <sup>1</sup>Polenok E.G., <sup>2</sup>Kostyanko M.V., <sup>3</sup>Antonov A.V.,

<sup>4</sup>Verzhbitskaya N.E., <sup>5</sup>Vafin I.A., <sup>5</sup>Ragozhina S.E., <sup>5</sup>Kamenskikh N.A.

<sup>1</sup>Institute of Human Ecology Siberian Branch of Russian Academy of Sciences,

Kemerovo, e-mail: ihe@list.ru;

<sup>2</sup>Kemerovo State University, Kemerovo, e-mail: ihe@list.ru;

<sup>3</sup>Regional clinical oncology hospital, Kemerovo, Kemerovo, e-mail: 05-guz-okod@kuzdrav.ru;

<sup>4</sup>Pathoanatomic bureaus, Kemerovo, e-mail: keu-73@mail.ru;

<sup>5</sup>Regional center of blood, Kemerovo, e-mail: stpk@kuzdrav.ru

The steroid hormones (estradiol, progesterone) and specific antibodies in the serum of 65 healthy women and 74 patients with breast cancer in postmenopausal women were investigated. Purpose – to identify the relationship between the concentrations of steroid hormones and the levels of specific antibodies in normal and pathology. For the first time there were revealed the direct correlations between the concentration of steroid hormones and the corresponding specific antibodies. In patients with breast cancer the relationship between estradiol and anti-estradiol antibodies were significant, but between progesterone and anti-progesterone antibodies were absent. Obviously the corresponding anti-idiotypic antibodies to progesterone influenced on the interaction of progesterone with specific antibodies. So the previous assumption about the effect of antibodies to endogenous steroids generated in the natural conditions on their biological functions have obtained by the first confirmation.

**Keywords:** breast cancer, antibodies, benzo[a]pyrene, estradiol, progesterone

Проблемы взаимодействия иммунной и эндокринной систем у женщин в менопаузе остаются актуальными в связи с широким распространением различных заболеваний, в первую очередь рака молочной железы (РМЖ). Особый интерес представ-

ляют специфические иммунные реакции на половые гормоны. В многочисленных экспериментах показано существенное влияние активной и пассивной иммунизации различных видов животных (самок) против эстрадиола (ЭС) и прогестерона (ПГ) не

только на содержание этих, но и других гормонов в сыворотке крови и различных органах, а также на их биологические функции [1, 3–6, 7, 9, 10]. Ранее выявлены характерные особенности образования антител (АТ) против ЭС и ПГ у женщин, больных РМЖ. Предполагается, что специфические АТ образуются в естественных условиях в ответ на появление аддуктов метаболитов стероидных гормонов с макромолекулами организма и обладают способностью модулировать биологические функции гормонов, в частности стимулировать или угнетать рост гормонозависимых опухолей [2, 8].

**Цель настоящего исследования** – выяснить, взаимосвязано ли содержание ЭС и ПГ с уровнями соответствующих АТ в сыворотке крови у женщин в менопаузе, в том числе при раке молочной железы.

**Материалы и методы исследования**

Нами были обследованы 139 женщин в постменопаузе. Из них – 74 больные РМЖ, которые поступили на лечение в Областной клинический онкологический диспансер г. Кемерово. Диагноз РМЖ в каждом случае был подтвержден морфологически, рентгенологически и эндоскопически. Средний возраст больных РМЖ – 58,9 ± 10,5 лет. В группу сравнения вошли 65 здоровых женщин без патологии молочной железы (средний возраст – 57,9 ± 7,1 лет).

Забор периферической крови осуществлялся согласно этическим стандартам в соответствии с Хельсинкской декларацией 2000 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.

Концентрацию эстрадиола и прогестерона определяли с помощью коммерческих наборов для ИФА («Иммунотех», г. Москва) согласно инструкции по применению.

Исследование АТ к БП, ЭС и ПГ проводили с помощью модифицированного нами неконкурентного иммуноферментного анализа [4, 10]. Уровни АТ к гаптенам выражали в относительных единицах и вычисляли по формуле

$$AT - X = (OD_{X-BCA} - OD_{BCA}) / OD_{BCA}$$

где X = БП, ЭС, ПГ;  $OD_{X-BCA}$  – связывание АТ с конъюгатом гаптен-БСА;  $OD_{BCA}$  – связывание с БСА.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием ППП Statistica 6.0 (StatSoft, Inc., USA). Ненормальный характер распределения показателей определили с помощью критерия Шапиро – Уилка и в дальнейшем статистически значимые различия между группами выявляли с помощью непараметрического U-критерия Манна – Уитни при уровне значимости  $p < 0,05$ . Взаимосвязи между уровнями специфических антител и содержанием стероидных гормонов оценивали с помощью коэффициента корреляции рангов Спирмена.

**Результаты исследования и их обсуждение**

При анализе стероидных гормонов выяснилось, что количество ЭС в сыворотке крови здоровых женщин в постменопаузе составило  $0,15 \pm 0,1$  нмоль/л, а ПГ –  $1,43 \pm 0,7$  нмоль/л. У больных РМЖ эти показатели равнялись  $0,14 \pm 0,1$  и  $1,46 \pm 0,5$  нмоль/л соответственно. Повышение соотношения концентраций ЭС/ПГ ( $> 0,1$ ) происходит за счет значимого повышения содержания ЭС и понижения ПГ как у здоровых женщин, так и у больных РМЖ (табл. 1).

Повышение соотношения IgA-АТ против ЭС и IgA-АТ против ПГ (АТ – ЭС/ПГ)  $> 0,1$  происходило за счет повышения уровней АТ–ЭС в обеих группах и, кроме того, за счет понижения уровня АТ–ПГ у больных РМЖ (табл. 2).

У здоровых женщин между содержанием ЭС и ПГ (y) и уровнями соответствующих специфических АТ–ЭС и АТ–ПГ (x) выявлены прямые, линейные, статистически значимые взаимосвязи слабой силы, которые описываются уравнениями регрессии общего вида  $y = ax + b$  (табл. 3). Аналогичные взаимосвязи обнаружены между рассчитанными значениями индивидуальных соотношений ЭС/ПГ (y), с одной стороны, и соотношений уровней АТ–ЭС/ПГ (x), с другой стороны.

**Таблица 1**

Медианы концентраций эстрадиола (ЭС) и прогестерона (ПГ) при повышенных ( $> Me$ ) и пониженных ( $\leq Me$ ) медианах их соотношений (ЭС/ПГ) в сыворотке крови здоровых женщин и больных раком молочной железы (РМЖ)

Гормоны	Группа сравнения (N = 65)			Больные РМЖ (N = 74)		
	ЭС/ПГ $> 0,1$	ЭС/ПГ $\leq 0,1$	p	ЭС/ПГ $> 0,1$	ЭС/ПГ $\leq 0,1$	p
	Me ± SD	Me ± SD		Me ± SD	Me ± SD	
ЭС	0,24 ± 0,1	0,11 ± 0,03	<b>0,000001</b>	0,24 ± 0,1	0,1 ± 0,04	<b>0,000001</b>
ПГ	1,34 ± 0,4	1,58 ± 0,8	<b>0,003</b>	1,41 ± 0,4	1,75 ± 0,5	<b>0,003</b>

Таблица 2

Медианы уровней IgA-антител к эстрадиолу и прогестерону (АТ-ЭС, АТ-ПГ) при повышенных ( $> Me$ ) и пониженных ( $\leq Me$ ) медианах их соотношений (АТ-ЭС/ПГ) в сыворотке крови здоровых женщин и больных раком молочной железы (РМЖ)

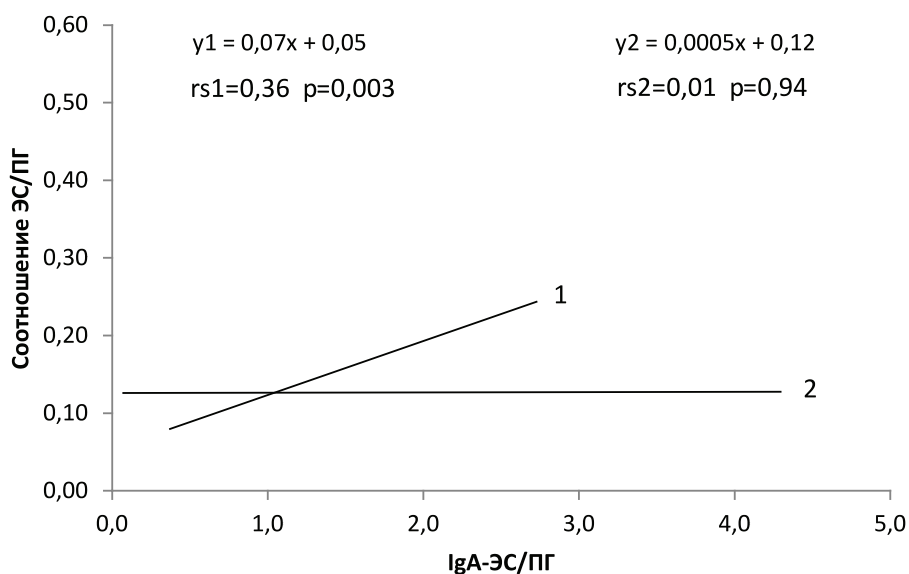
Антитела	Группа сравнения (N = 65)			Больные РМЖ (N = 74)		
	АТ – ЭС/ПГ > 0,1	АТ – ЭС/ ПГ $\leq$ 0,1	p	АТ – ЭС/ ПГ > 0,1	АТ – ЭС/ ПГ $\leq$ 0,1	p
	Me $\pm$ SD	Me $\pm$ SD		Me $\pm$ SD	Me $\pm$ SD	
АТ-ЭС	5,2 $\pm$ 3,4	2,8 $\pm$ 1,9	<b>0,001</b>	5,22 $\pm$ 3,3	3,75 $\pm$ 1,9	<b>0,045</b>
АТ-ПГ	3,7 $\pm$ 2,3	4,2 $\pm$ 2,9	0,7	4,28 $\pm$ 2,6	7,8 $\pm$ 4,2	<b>0,000001</b>

Таблица 3

Взаимосвязи содержания эстрадиола (ЭС), прогестерона (ПГ) и их соотношений (ЭС/ПГ) с уровнями антител к эстрадиолу (АТ-ЭС) и прогестерону (АТ-ПГ) и их соотношений в сыворотке крови здоровых женщин и больных раком молочной железы (РМЖ)

y	x	Группа сравнения		Больные РМЖ	
		$r_s$ (p)	$y = ax + b$	$r_s$ (p)	$y = ax + b$
АТ-ЭС	ЭС	0,29 (0,015)	$y = 0,01x + 0,14$	0,27 (0,01)	$y = 0,01x + 0,13$
АТ-ПГ	ПГ	0,33 (0,006)	$y = 0,07x + 1,29$	0,01 (0,91)	$y = 0,004x + 1,55$
АТ-ЭС/ПГ	ЭС/ПГ	0,29 (0,009)	$y = 0,07x + 0,05$	0,01 (0,94)	$y = 0,001x + 0,12$

Примечание.  $r_s$  – коэффициент корреляции по Спирмену.



Корреляционные связи между индивидуальными соотношениями содержания эстрадиола/прогестерона (y) и уровнями антител к эстрадиолу/прогестерону (x) у здоровых женщин (1) и больных раком молочной железы (2)

У больных РМЖ статистически значимая взаимосвязь между содержанием ЭС и уровнями АТ-ЭС также имеет место, и ее характер не отличается от такового у здоровых женщин. Не выявлено взаимосвязей между содержанием ПГ и уровнями АТ-ПГ, а также между значениями рассчитанных индивидуальных соотношений ЭС/ПГ и АТ-ЭС/ПГ. Коэффициенты корреляции в последних случаях не превышают 0,01

с очень низкими уровнями значимости ( $p > 0,9$ ).

Обнаруженные различия между сравниваемыми группами наглядно изображены на рисунке.

#### Заключение

Таким образом, впервые выявлены прямые корреляционные взаимосвязи между содержанием стероидных гормонов

и соответствующих специфических АТ у человека в естественных условиях. Эти взаимосвязи оказались характерными для здоровых женщин в постменопаузе. У больных РМЖ взаимосвязи между содержанием ЭС и уровнями АТ-ЭС сохранились, а между содержанием ПГ и уровнями АТ-ПГ отсутствовали. Причина нарушений этих взаимосвязей, равно как и патогенетическое значение для развития РМЖ, остаются неизвестными. Не исключено, что на взаимодействие АТ-ПГ и ПГ в сыворотке крови оказывают влияние соответствующие антиидиотипические АТ, исследование которых еще предстоит выполнить. Тем не менее ранее высказанное предположение о влиянии АТ к стероидным эндобактериям, образующимся в естественных условиях, на биологические функции последних получило первое подтверждение.

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

#### Список литературы

1. Антитела к бензо[а]пирену в сыворотке крови больных немелкоклеточным раком лёгкого / Е.Г. Поленок, Т.П. Аносова, М.П. Аносов, К.С. Красильникова, Е.А. Гуров, В.А. Титов, И.А. Н.Е. Вержбицкая, И.А. Вафин, С.Е. Рагожина, Глушков А.Н. // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – № 3(85). – Часть 2. – С. 151–154.
2. Глушков А.Н. Клиническая иммунохимия канцерогенеза: новые задачи и перспективы // Российский иммунологический журнал. – 2013. – Т. 7(16), № 1. – С. 27–34.
3. Изотипические особенности антител к полициклическим ароматическим углеводородам у больных раком молочной железы, желудка, толстой и прямой кишки / А.Н. Глушков, Т.П. Аносова, Н.Г. Небесная, Л.Я. Железнова // Экспериментальная Онкология. – 1996. – № 18. – С. 426–428.
4. Сывороточные антитела к бензо[а]пирену и хромосомные aberrации в лимфоцитах периферической крови у рабочих углеперерабатывающего предприятия / А.Н. Глушков, Е.Г. Поленок, Т.П. Аносова, Я.А. Савченко, М.Л. Баканова, В.И. Минина, С.А. Мун, С.А. Ларин, М.В. Костянко // Российский иммунологический журнал. – 2011. – Т. 5(14), № 1. – С. 39–44.
5. Эстрогеновые рецепторы, антиэстрогены и немелкоклеточный рак легкого / Т.А. Богущ, Е.А. Дудко, А.А. Беме, Е.А. Богущ, А.И. Ким, Б.Е. Полоцкий, С.А. Тюляндин, М.И. Давыдов // Биохимия. – 2010. – Т. 75, вып. 12. – С. 1633–1641.
6. Cavalieri E.L., Stack D.E., Devanesan P.D. Molecular origin of cancer: catechol estrogen-3,4-quinones as endogenous tumor initiators // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1997. – № 94. – P. 10937–10942.

7. Expression of estrogen and progesterone receptors in non-small cell lung cancer: immunohistochemical study / J.M. Su, H.K. Hsu, H. Chang, S.L. Lin, H.C. Chang, M.S. Huang, H.H. Tseng // Anticancer Res. – 1996. – Vol. 16. – P. 3803–3806.
8. Glushkov A.N. Immunostimulation of the chemical-induced carcinogenesis in the phase of initiation // Medical Hypotheses. – 2002. – Vol. 5. – P. 501–503.
9. Human non-small cell lung tumors and cells derived from normal lung express both estrogen receptor  $\alpha$  and  $\beta$  and show biological responses to estrogen / L.P. Stabile, A.L. Davis, C.T. Gubish, T.M. Hopkins, J.D. Luketich, N. Christie, S. Finkelstein, J.M. Siegfried // Cancer Res. – 2002, Vol. 62. – P. 2141–2150.
10. Synthesis of polycyclic aromatic hydrocarbon-protein conjugates for preparation and immunoassay of antibodies / A.N. Glushkov, M.V. Kostjanko, S.V. Chernov, I.L. Vasilchenko // Rus. J. Immunol. – 2002. – Vol. 7, № 1. – P. 42–46.

#### References

1. Polenok E.G., Anosova T.P., Anosov M.P., Krasilnikova K.S., Gurov E.A., Titov V.A., Verzhbickaja N.E., Vafin I.A., Ragozhina S.E., Bulleten VSNC SO RAMN, 2012, no. 3(85), ch. 2, pp. 151–154.
2. Glushkov A.N., Rossijskij immunologicheskij zhurnal, 2013, Vol. 7(16), no. 1, pp. 27–34.
3. Glushkov A.N., Anosova T.P., Nebesnaja N.G., Zheleznova L.Ja, Jeksperimentalnaja Onkologija, 1996, no. 18, pp. 426–428.
4. Glushkov A.N., Polenok E.G., Anosova T.P., Savchenko Ja.A., Bakanova M.L., Minina V.I., Mun S.A., Larin S.A., Kostjanko M.V., Rossijskij immunologicheskij zhurnal, 2011, Vol. 5(14), no. 1, pp. 39–44.
5. Bogush T.A., Dudko E.A., Beme A.A., Bogush E.A., Kim A.I., Polockij B.E., Tjuljandin S.A., Davydov M.I., Biohimija, 2010, Vol. 75, vyp. 12, pp. 1633–1641.
6. Cavalieri E.L., Stack D.E., Devanesan P.D., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1997, no.94, pp. 10937–10942.
7. Su J.M., Hsu H.K., Chang H., Lin S.L., Chang H.C., Huang M.S., Tseng H.H., Anticancer Res, 1996, Vol. 16, pp. 3803–3806.
8. Glushkov A.N., Medical Hypotheses, 2002, Vol. 5, pp. 501–503.
9. Stabile L.P., Davis A.L.G., Gubish C.T., Hopkins T.M., Luketich J.D., Christie N., Finkelstein S., Siegfried J.M., Cancer Res, 2002, Vol. 62, pp. 2141–2150.
10. Glushkov A.N., Kostjanko M.V., Chernov S.V., Vasilchenko I.L., Rus. J. Immunol., 2002, Vol. 7, no 1, pp. 42–46.

#### Рецензенты:

Дружинин В.Г., д.б.н., профессор, заведующий кафедрой генетики биологического факультета, ФГБОУ ВПО «Кемеровский государственный университет», г. Кемерово;

Неверова О.А., д.б.н., профессор, заведующая лабораторией экологического биомониторинга, ФГБУН «Институт экологии человека» Сибирского отделения РАН, г. Кемерово.