

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ



УДК 618.19-006-097.1:577.112.853

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2018-3-5-12>

Для цитирования: Аутеншлюс А.И., Кунц Т.А., Карпухина К.В., Михайлова Е.С., Вараксин Н.А., Маринкин И.О. Влияние раково-эмбрионального антигена на продукцию цитокинов иммунокомпетентными клетками крови у больных с опухолями молочной железы. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17 (3): 5–12.

Влияние раково-эмбрионального антигена на продукцию цитокинов иммунокомпетентными клетками крови у больных с опухолями молочной железы

Аутеншлюс А.И.^{1,2}, Кунц Т.А.¹, Карпухина К.В.², Михайлова Е.С.^{1,2}, Вараксин Н.А.³, Маринкин И.О.¹

¹ Новосибирский государственный медицинский университет (НГМУ)
Россия, 630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

² Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики (НИИ МББ)
Россия, 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2/12

³ ЗАО «Вектор-Бест»
Россия, 630559, Новосибирская обл., р.п. Кольцово

РЕЗЮМЕ

Цель – изучение влияния раково-эмбрионального антигена (РЭА) на иммунокомпетентные клетки крови при опухолях молочной железы.

Материалы и методы. Исследована периферическая кровь 67 пациентов с инвазивным протоковым раком ($n = 44$), фиброаденомой ($n = 12$) и предраковыми состояниями молочной железы ($n = 11$). В супернатантах клеток крови иммуноферментным анализом определяли продукцию цитокинов, индуцированную РЭА.

Результаты. Обнаружено, что у больных с фиброаденомой РЭА стимулировал выработку IL-6, IL-8, IL-10, IL-1 β , IL-1Ra, TNF α , G-CSF, GM-CSF и белка MCP-1 по сравнению с группами больных с инвазивным протоковым раком и предраковыми состояниями. Индексы влияния РЭА на продукцию цитокинов иммунокомпетентными клетками в этих группах были ниже, чем при фиброаденоме вследствие изначально высокой спонтанной продукции цитокинов.

Заключение. Выявлена выраженная спонтанная цитокинпродуцирующая функция иммунокомпетентных клеток крови пациентов с инвазивным протоковым раком и предраковыми состояниями по сравнению с группой пациентов с фиброаденомой. Различия в индексах влияния РЭА на продукцию цитокинов у пациентов со злокачественными, доброкачественными и предраковыми состояниями могут служить основой создания методов дифференциальной диагностики опухолей молочной железы.

Ключевые слова: раково-эмбриональный антиген, цитокины, инвазивный протоковый рак, фиброаденома, предраковые состояния, молочная железа.

✉ Аутеншлюс Александр Исаевич, e-mail: lpcciip@211.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Раково-эмбриональный антиген (РЭА) относится к опухолеассоциированным антигенам, связанным с молекулой клеточной адгезии 5 (СЕАСАМ5). Все 12 РЭА-подобных белков являются представителями суперсемейства иммуноглобулинов [1]. Молекулы РЭА способны к связыванию между собой и с другими белковыми молекулами, предполагается, что в организме они играют значительную роль в клеточной адгезии и поляризации клеток [2].

Экспрессия РЭА сильнее всего выражена в железистых формах злокачественных эпителиальных опухолей различных органов: в 75% случаев в клетках рака желудка-кишечного тракта [3–6], 70% случаев немелкоклеточного рака легких [7], 50% случаев рака молочной железы [8–13], при раке эндометрия [14] и других локализаций [15–17].

Высокие уровни этого маркера в сыворотке не всегда обусловлены злокачественным потенциалом опухоли. Уровень РЭА увеличивается с возрастом, что отмечается при многих неопухолевых заболеваниях, в частности при воспалительных заболеваниях кишечника, хроническом гепатите, каротидном атеросклерозе, метаболическом синдроме, а также при курении [18]. Поскольку это создает серьезный клинический барьер в гетерогенных выборках, связанный с наличием как неопластических, так и неопухолевых процессов, определение РЭА с использованием известных пороговых значений применяется для мониторинга рецидивов злокачественных опухолей и развития метастазов у больных, получающих неоадьювантную терапию [19].

Хотя функция РЭА остается до конца не ясной, тем не менее известно о стимуляции РЭА продукции TNF α , IL-1 и IL-6 клетками Купфера человека *in vitro* [20]. Поэтому представляет интерес изучение влияния РЭА на иммунокомпетентные клетки (ИКК), особенно при злокачественных новообразованиях, в том числе раке молочной железы, что и явилось целью настоящей работы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследования служила периферическая кровь 67 пациентов, из которых на основании патогистологических исследований у 44 в возрасте 43–77 лет был диагностирован инвазивный протоковый рак (ИПР), по гистологическому типу представляющий аденокарциному 1-й стадии (три человека), 2-й стадии (37 человек)

и 3-й стадии (четыре человека). У 12 женщин в возрасте 18–60 лет была диагностирована фиброаденома молочной железы (ФАМ). Поскольку фиброаденома молочной железы, будучи неинвазивной доброкачественной опухолью, по статистике встречается у 45–65% женщин [21], эти пациенты составили группу сравнения. У четырех пациентов был выявлен склерозирующий аденоз, у семи – внутривидовые и внутривидовые пролифераты молочной железы. На основании литературных данных, склерозирующий аденоз и внутривидовые и (или) внутривидовые пролифераты относят к предраковым состояниям (ПРС) [22], поэтому указанные выше пациенты (11 человек) в возрасте 33–60 лет были выделены в отдельную группу. Пациенты, в супернатанте ИКК крови которых определяли концентрацию цитокинов, не имели обострения инфекционно-воспалительных и неинфекционных заболеваний.

Цельную кровь в количестве 1 мл помещали в стерильный флакон с 4 мл среды (стерильная питательная среда DMEM), содержащей гепарин 2,5 МЕ/мл и гентамицин 100 мкг/мл. Аккуратно перемешивали содержимое флакона, затем из него забирали 0,980 мл разбавленной крови и помещали ее в стерильный флакон, содержащий 0,020 мл раково-эмбрионального антигена (carcinoembryonic antigen, human tumor) производства Calbiochem, Германия, конечная концентрация РЭА составила 2 мкг/мл. Содержимое флакона перемешивали и инкубировали в течение 24 ч при 37 °С. Параллельно в тех же условиях инкубировали клетки крови в той же питательной среде без РЭА (для определения спонтанной продукции цитокинов). В течение 1-го ч инкубации содержимое флаконов аккуратно перемешивали один раз. Затем путем центрифугирования при 1 000 g в течение 10 мин осаждали клетки крови и отбирали супернатанты из пробирок, в которых клетки крови инкубировали как с РЭА, так и без него. С помощью твердофазного иммуноферментного анализа в супернатантах определяли концентрацию интерлейкинов (IL) IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IL-18, IL-1 β , IL-1Ra; TNF α , G-CSF, GM-CSF, VEGF и MCP-1 с использованием наборов реагентов производства ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск.

Индекс влияния раково-эмбрионального антигена (ИВ РЭА) на продукцию цитокинов клетками крови рассчитывали по формуле ИВ РЭА = А/Б, где А – уровень продукции цитокина под влиянием РЭА, Б – уровень спонтанной продукции цитокина. ИВ РЭА выражали в условных единицах.

Статистическую обработку данных выполняли с использованием непараметрического критерия Манна – Уитни. Показатели выражали в виде медианы *Me*, нижнего 5% и верхнего 95% для более точного определения границ и максимально полного учета данных в имеющейся выборке.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Согласно данным, представленным в табл. 1, ИКК периферической крови трех групп пациентов способны продуцировать цитокины (спонтан-

ная продукция), причем концентрация IL-8, IL-17, IL-1 β , IL-1Ra, TNF α , G-CSF и MCP-1 в супернатанте клеток крови женщин группы ИПР была повышена по сравнению с концентрацией аналогичных цитокинов в группе ФАМ. Концентрации тех же цитокинов, а также VEGF в группе ПРС в супернатанте ИКК крови была повышена по сравнению с группой ФАМ. Следовательно, при наличии у женщин ИПР, а также при предраковых состояниях происходит повышение спонтанной продукции вышеуказанных цитокинов по сравнению с показателями женщин с ФАМ.

Т а б л и ц а 1
T a b l e 1

Спонтанная продукция цитокинов клетками периферической крови больных ИПР, с ФАМ и ПРС молочной железы, *Me* (5–95-й %)
 Spontaneous cytokine production by peripheral blood cells in patients suffering invasive ductal carcinoma (IDC), mammary fibroadenoma (FAM) and breast pre-cancer (BPC), *Me* (5–95th %)

Цитокин Cytokine	Концентрация, пг/мл Concentration, pg/ml		
	Группа 1 (ИПР, <i>n</i> = 44) Group 1 (IDC, <i>n</i> = 44)	Группа 2 (ФАМ, <i>n</i> = 12) Group 2 (FAM, <i>n</i> = 12)	Группа 3 (ПРС, <i>n</i> = 11) Group 3 (BPC, <i>n</i> = 11)
IL-6	271,30 (0,50–3724,60)	120,20 (20,00–507,80)	443,50 (5,00–1593,50)
IL-8	1352,50 (240,00–11580,00) $p_{1-2} = 0,014$	542,50 (50,00–3570,00) $p_{2-3} = 0,016$	1580,00 (335,00–18835,00)
IL-10	1,20 (1,00–21,80)	1,00 (1,00–15,70)	1,40 (1,00–16,70)
IL-17	2,00 (2,00–47,50) $p_{1-2} = 0,007$	2,00 (2,00–2,00) $p_{2-3} = 0,011$	2,00 (2,00–56,00)
IL-18	15,40 (1,00–39,00)	14,70 (10,00–47,60)	12,10 (1,00–40,30)
IL-1 β	56,10 (12,30–265,30) $p_{1-2} = 0,025$	27,70 (7,70–173,00) $p_{2-3} = 0,010$	80,90 (16,20–248,90)
IL-1Ra	1231,10 (494,90–2573,60) $p_{1-2} = 0,002$	602,60 (223,30–1247,90) $p_{2-3} = 0,023$	1287,50 (220,30–2787,30)
TNF α	10,15 (1,60–108,30) $p_{1-2} = 0,031$	5,60 (1,00–12,60) $p_{2-3} = 0,012$	15,30 (1,00–231,40)
G-CSF	24,35 (2,00–272,20) $p_{1-2} = 0,008$	6,55 (2,00–40,70) $p_{2-3} = 0,024$	29,80 (7,70–79,90)
GM-CSF	3,95 (2,00–23,00)	2,00 (2,00–6,50)	4,80 (2,00–18,40)
VEGF	50,55 (10,00–200,30)	46,35 (2,10–99,80) $p_{2-3} = 0,036$	80,80 (55,50–101,60)
MCP-1	6331,95 (1099,00–21174,70) $p_{1-2} = 0,003$	2557,85 (525,10–5726,00) $p_{2-3} = 0,019$	6056,00 (2539,00–13067,00)

П р и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 2, 3: ИПР – инвазивный протоковый рак, ФАМ – фиброаденома, ПРС – предраковые состояния.

N o t e. Here and in the table 2, 3: IDC – invasive ductal carcinoma, FAM – mammary fibroadenoma, BPC – breast pre-cancer.

При использовании РЭА в качестве активатора ИКК крови были получены результаты, свидетельствующие о том, что только у пациентов с ФАМ РЭА статистически значимо стимулирует выработку цитокинов IL-6, IL-8, IL-10, IL-1 β , IL-1Ra, TNF α , G-CSF, GM-CSF и MCP-1 по сравнению с группой ИПР (табл. 2). Что касается группы ПРС, то в супернатанте ИКК

концентрация цитокинов была значимо ниже, чем в группе ФАМ. Следовательно, ИКК крови пациентов с ИПР, а также с предраковыми состояниями молочной железы, изначально характеризовавшимися более высоким уровнем спонтанной продукции цитокинов (см. табл. 1), не повышали продукцию цитокинов при влиянии на них РЭА.

Т а б л и ц а 2
Table 2

Влияние ракового эмбрионального антигена на продукцию цитокинов клетками периферической крови больных ИПР, с ФАМ и ПРС молочной железы, Ме (5–95-й %о)			
Influence of carcinoembryonic antigen on the production of cytokines by peripheral blood cells in patients suffering from IDC, FAM and BPC, Me (5–95th %о)			
Цитокин Cytokine	Концентрация, пг/мл Concentration, pg/ml		
	Группа 1 (ИПР, n = 44) Group 1 (IDC, n = 44)	Группа 2 (ФАМ, n = 12) Group 2 (FAM, n = 12)	Группа 3 (ПРС, n = 11) Group 3 (BPC, n = 11)
IL-6	3395,50 (0,50–15590,00) $p_{1-2} = 0,012$	9815,00 (4629,00–17640,80) $p_{2-3} = 0,023$	1760,00 (4,00–18951,40)
IL-8	6850,00 (2250,00–28550,00) $p_{1-2} = 0,002$	19000,00 (5500,00–120000,00) $p_{2-3} = 0,012$	5250,00 (2900,00–138200,00)
IL-10	2,00 (1,00–54,30) $p_{1-2} = 0,023$	7,20 (2,00–131,00) $p_{2-3} = 0,027$	1,00 (1,00–135,60)
IL-17	22,70 (2,00–48,60)	8,55 (0,01–61,80)	21,00 (0,01–52,30)
IL-18	23,95 (1,70–88,70)	36,055 (7,00–136,00)	14,30 (1,00–43,00)
IL-1 β	356,50 (33,30–1391,00) $p_{1-2} = 0,004$	990,50 (360,00–1557,50) $p_{2-3} = 0,002$	291,00 (10,00–1592,50)
IL-1Ra	2032,60 (493,00–17003,00) $p_{1-2} = 0,31$	6919,30 (2693,30–12031,70) $p_{2-3} = 4,9 \times 10^{-5}$	1,35 (0,02–2450,00) $p_{1-3} = 1,5 \times 10^{-4}$
TNF α	113,60 (1,00–450,00) $p_{1-2} = 0,001$	317,50 (155,00–613,00) $p_{2-3} = 0,012$	29,50 (1,00–633,00)
G-CSF	223,60 (5,80–1171,40) $p_{1-2} = 0,013$	627,80 (206,80–1194,40) $p_{2-3} = 0,012$	84,40 (4,00–1041,20)
GM-CSF	39,45 (2,60–175,40) $p_{1-2} = 0,007$	77,95 (33,00–608,60) $p_{2-3} = 0,008$	27,00 (17,80–61,90)
VEGF	98,60 (34,00–294,60)	146,30 (17,00–264,90) $p_{2-3} = 0,049$	73,80 (27,60–144,80)
MCP-1	1815,20 (359,00–11435,10) $p_{1-2} = 0,001$	7866,40 (1152,00–15263,00) $p_{2-3} = 0,001$	2027,60 (218,00–5864,00)

Для объективного отражения цитокинпродуцирующего потенциала ИКК крови всех групп был применен индекс влияния РЭА, который учитывает как спонтанную, так и стимулированную продукцию.

Так, ИВ РЭА на продукцию IL-6, IL-8, IL-10, IL-1 β , IL-1Ra, TNF α , G-CSF, GM-CSF, VEGF и MCP-1 в группе ИПР были значимо ниже по сравнению с аналогичными показателями в группе ФАМ (табл. 3).

Т а б л и ц а 3
Table 3

Индекс влияния ракового эмбрионального антигена на продукцию цитокинов клетками периферической крови больных ИПР, с ФАМ и ПРС молочной железы, Ме (5–95-й %о)			
Index of influence of carcinoembryonic antigen on the production of cytokines by peripheral blood cells in patients suffering from IDC, FAM and BPC, Me (5–95th %о)			
Цитокин Cytokine	Группа 1 (ИПР, n = 44) Group 1 (IDC, n = 44)	Группа 2 (ФАМ, n = 12) Group 2 (FAM, n = 12)	Группа 3 (ПРС, n = 11) Group 3 (BPC, n = 11)
IL-6	10,09 (0,56–145,70) $p_{1-2} = 2,4 \times 10^{-4}$	85,71 (19,98–491,50) $p_{2-3} = 0,002$	5,25 (0,01–352,00)
IL-8	4,79 (0,98–45,32) $p_{1-2} = 5 \times 10^{-6}$	55,49 (11,44–112,87) $p_{2-3} = 1,1 \times 10^{-4}$	6,59 (0,47–13,83)
IL-10	1,00 (0,09–42,60) $p_{1-2} = 0,046$	7,20 (0,13–131,00)	1,00 (0,21–29,48)
IL-17	1,00 (0,93–16,05)	4,28 (0,01–30,90)	1,00 (0,00–17,65)
IL-18	1,37 (0,90–5,71)	1,58 (0,41–5,17)	1,31 (0,91–13,00)
IL-1 β	9,97 (0,34–78,72) $p_{1-2} = 2,6 \times 10^{-4}$	31,81 (8,74–126,49) $p_{2-3} = 8,2 \times 10^{-4}$	2,44 (0,14–10,28) $p_{1-3} = 0,014$

Цитокин Cytokine	Группа 1 (ИПР, $n = 44$) Group 1 (IDC, $n = 44$)	Группа 2 (ФАМ, $n = 12$) Group 2 (FAM, $n = 12$)	Группа 3 (ПРС, $n = 11$) Group 3 (BPC, $n = 11$)
IL-1Ra	1,70 (0,41–18,15) $p_{1-2} = 0,001$	10,97 (2,75–36,56) $p_{2-3} = 2,8 \times 10^{-4}$	1,35 (0,26–9,74)
TNF α	6,33 (0,26–88,69) $p_{1-2} = 3 \times 10^{-5}$	70,32 (16,15–613,00) $p_{2-3} = 3,6 \times 10^{-4}$	1,59 (0,08–41,37)
G-CSF	5,39 (0,98–212,98) $p_{1-2} = 1,1 \times 10^{-4}$	142,45 (13,70–477,80) $p_{2-3} = 8,2 \times 10^{-5}$	2,00 (0,39–31,23) $p_{1-3} = 0,043$
GM-CSF	7,59 (0,78–52,25) $p_{1-2} = 3,5 \times 10^{-4}$	33,15 (10,61–243,44) $p_{2-3} = 7,1 \times 10^{-4}$	2,33 (1,00–44,25)
VEGF	1,70 (0,57–8,11) $p_{1-2} = 0,033$	3,08 (0,55–58,43) $p_{2-3} = 0,001$	1,29 (0,47–2,63)
MCP-1	0,43 (0,05–1,73) $p_{1-2} = 1 \times 10^{-6}$	2,68 (1,22–9,93) $p_{2-3} = 7,1 \times 10^{-4}$	0,19 (0,02–2,82)

ИВ РЭА на продукцию тех же цитокинов в группе ПРС, за исключением IL-10, также были снижены по сравнению с показателями группы ФАМ, что явилось следствием изначально высоких спонтанных уровней продукции этих цитокинов ИКК крови при ИПР и предраковых состояниях молочной железы.

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования показали, что ИКК крови больных с ИПР обладают достаточно высоким уровнем спонтанной продукции ряда цитокинов по сравнению с ИКК крови женщин с ФАМ, что также было установлено в предыдущих работах [23, 24].

Предраковые состояния, к которым относят склерозирующий аденоз, а также внутрипротоковые и внутридольковые пролифераты, гистологически характеризуются изменениями архитектоники молочной железы, усилением миоэпителиального компонента и фиброзом стромы [25]. Показано, что подобные изменения функции стромальных клеток могут быть критическими при трансформировании процесса из доброкачественного в злокачественный. При этом ключевая функция миоэпителиальных клеток – поддержание тканевой структуры – утрачивается, а фибробласты активируются, продуцируя ряд факторов, действие которых направлено на деградацию внеклеточного матрикса и формирование характерного для инвазивного рака клеточного фенотипа [26].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Определение концентрации цитокинов в супернатантах ИКК крови показало, что только ИКК крови пациентов с ФАМ реагировали на

РЭА повышением продукции цитокинов. Инкубирование с РЭА клеток крови женщин с ИПР и ПРС не приводило к существенному повышению уровня продукции цитокинов по сравнению с супернатантами ИКК крови в группе ФАМ, о чем можно судить по значениям ИВ РЭА, и что обусловлено более высоким уровнем их спонтанной продукции по сравнению с показателями группы ФАМ и свидетельствует о выраженной цитокинпродуцирующей функции ИКК больных с ИПР и ПРС.

Таким образом, различия в значениях индекса влияния РЭА на цитокинпродуцирующую функцию ИКК крови у пациентов со злокачественными и доброкачественными опухолями, а также с предраковыми состояниями могут служить основой создания методов дифференциальной диагностики опухолей молочной железы.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

Аутеншлюс А.И. – разработка концепции, дизайна и технологии исследования, выделение критически важного интеллектуального содержания. Кунц Т.А. – статистический анализ и интерпретация данных. Карпухина К.В. – разработка клинического материала. Михайлова Е.С. – постановка реакций клеток крови с РЭА, расчет доз препарата, иммуноферментный анализ, обсчет протоколов исследования. Варакин Н. А. – проведение иммуноферментного анализа. Маринкин И.О. – редактирование рукописи для публикации.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследование одобрено этическим комитетом ФГБНУ НИИМББ (протокол № 2 от 10.05.2017 г.).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Pavlopoulou A., Scorilas A. A comprehensive phylogenetic and structural analysis of the carcinoembryonic antigen (CEA) gene family. *Genome Biol. Evol.* 2014; 6 (6): 1314–1326. DOI: 10.1093/gbe/evu103.
- Duffy M.J. Carcinoembryonic antigen as a marker for colorectal cancer: is it clinically useful? *Clinical Chemistry.* 2001; 47 (4): 624–630. <http://clinchem.aaccjnls.org/content/47/4/624.full>
- Гатауллин И.Г., Петров С.В., Валиев А.А., Шакиров Р.К. Прогностическая модель эффективности лечения больных колоректальным раком. *Поволжский онкологический вестник.* 2010; 1 (1): 27–30. [Gataullin I.G., Petrov S.V., Valiev A.A., Shakirov R.K. Prognostic model of treatment efficacy of colorectal cancer patients. *Povolzhsky onkologicheskyy vestnik – Oncology Bulletin of the Volga Region.* 2010; 1 (1): 27–30 (in Russ.)]. <http://elibrary.ru/item.asp?id=23498987>.
- Deng K., Yang L., Hu B., Wu H., Zhu H., Tang C. The prognostic significance of pretreatment serum CEA levels in gastric cancer: a meta-analysis including 14651 patients. *Plos. One.* 2015; 10: e124151. DOI: 10.1371/journal.pone.0124151.
- Kim C.H., M.D., Lee S.Y., Kim H.R., Kim Y.J. Prognostic effect of pretreatment serum carcinoembryonic antigen level: a useful tool for prediction of distant metastasis in locally advanced rectal cancer following neoadjuvant chemoradiotherapy and total mesorectal excision. *Medicine.* 2015; 94 (31): 1–7. DOI: 10.1097/MD.0000000000001291.
- Wang J., Wang X., Yu F., Chen J., Zhao S., Zhang D., Yu Y., Liu X., Tang H., Peng Z. Combined detection of preoperative serum CEA, CA19-9 and CA242 improve prognostic prediction of surgically. *Int. J. Clin. Exp. Patol.* 2015; 8 (11): 14853–14863. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4713601>
- Grunnet M., Sorensen J.B. Carcinoembryonic antigen (CEA) as tumor marker in lung cancer. *Lung Cancer.* 2012; 76 (2): 138–143. DOI: 10.1016/j.lungcan.2011.11.012.
- Wang J.Y., Lu C.Y., Chu K.S., Ma C.J., Wu D.C., Tsai H.L., Yu F.J., Hsieh J.S. Prognostic significance of pre- and postoperative serum carcinoembryonic antigen levels in patients with colorectal cancer. *Eur. Surg. Res.* 2007; 39: 245–250. DOI: 10.1159/000101952.
- Bhatt A.N., Mathur R., Farooque A., Verma A., Dwarkanath B.S. Cancer biomarkers—current perspectives. *Indian J. Med. Res.* 2010; 132: 129–149. <http://www.ijmr.org.in/downloadpdf.asp?issn=0971-5916;year=2010;volume=132;issue=2;spage=129;epage=149;aulast=Bhatt;type=2>.
- Lee J.S., Park S., Park J.M., Cho J.H., Kim S.I., Park B.W. Elevated levels of preoperative CA 15–3 and CEA serum levels have independently poor prognostic significance in breast cancer. *Ann. Oncol.* 2013; 24: 1225–1231. DOI: 10.1093/annonc/mds604 PMID: 232301379.
- Pedersen A.C., Sorensen P.D., Jacobsen E.H., Madsen J.S., Brandslund I. Sensitivity of CA 15–3, CEA and serum HER2 in the early detection of recurrence of breast cancer. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2013; 51 (7): 1511–1519. DOI: 10.1515/cclm-2012-0488 PMID: 23403727.
- Wu S.G., He Z.Y., Zhou J., Sun J.Y., Li F.Y., Lin Q., Guo L., Lin H.X. Serum levels of CEA and CA15-3 in different molecular subtypes and prognostic value in Chinese breast cancer. *Breast.* 2014; 23: 88–93. DOI: 10.1016/j.breast.2013.11.003 PMID: 24291374.
- Wu L., Huang P., Wang F., Li D., Xie E., Zhang Y., Pan S. Relationship between serum CA19-9 and CEA levels and prognosis of pancreatic cancer. *Ann. Transl. Med.* 2015; 3 (21): 328–331. DOI: 10.3978/j.issn.2305-5839.2015.11.17.
- Hashiguchi Y., Kasai M., Fukuda T., Ichimura T., Yasui T., Sumi T. Serum carcinoembryonic antigen as a tumour marker in patients with endometrial cancer. *Curr. Oncol.* 2016; 23 (5): e439–e442. DOI: 10.3747/co.23.3153.
- Barak V., Meirovitz A., Leibovici V., Rachmut J., Peretz T., Eliashar R., Gross M. The diagnostic and prognostic value of tumor markers (CEA, SCC, CYFRA 21-1, TPS) in head and neck cancer patients. *Anticancer Res.* 2015; 35 (10): 5519–5524. <http://ar.iiarjournals.org/content/35/10/5519.long>.
- Saito H., Noji T., Okamura K., Tsuchikawa T., Shichinohe T., Hirano S. A new prognostic scoring system using factors available preoperatively to predict survival after operative resection of perihilar cholangiocarcinoma. *Surgery.* 2016; 159 (3): 842–851. DOI: 10.1016/j.surg.2015.10.027.
- Liska V., Treska V., Skalicky T., Fichtl J., Bruha J., Vycital O., Topolcan O., Palek R., Rosendorf J., Polivka J., Holubec L. Evaluation of tumor markers and their impact on prognosis in gallbladder, bile duct and cholangiocellular carcinomas - a pilot study. *Anticancer Res.* 2017; 37 (4): 2003–2009. DOI: 10.21873/anticancer.11544.
- Tomita M., Ayabe T., Chosa E., Nose N., Nakamura K. Prognostic significance of a tumor marker index based on preoperative serum carcinoembryonic antigen and Krebs von den Lungen-6 levels in non-small cell lung cancer. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2017; 18 (1): 287–291. DOI: 10.22034/APJCP.2017.18.1.287.
- Kim C.G., Ahn J.B., Jung M., Beom S.H., Heo S.J., Kim J.H., Kim Y.J., Kim N.K., Min B.S., Koom W.S., Kim H., Roh Y.H., Ma B.G., Shin S.J. Preoperative serum carcinoembryonic antigen level as a prognostic factor for recurrence and survival after curative resection followed by adjuvant chemotherapy in stage III colon cancer. *Ann. Surg. Oncol.* 2017; 24 (1): 227–235. DOI: 10.1245/s10434-016-5613-5.
- Gangopadhyay A., Lazure D., Thomas P. Adhesion of colorectal carcinoma cells to the endothelium is medi-

- ated by cytokines from CEA stimulated Kupffer cells. *Clin. Exp. Metastasis*. 1998; 16 (8): 703–712. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10211983>.
21. Семиглазов В.Ф., Айламазян Э.К., Байлюк Е.Н., Ни-аури Д.А., Иванов В.Г., Манихас А.Г., Кветной И.М., Сошнев А.А. Профилактика рака молочной железы у больных пролиферативными процессами репродуктивной системы. *Вопросы онкологии*. 2006; 52 (3): 247–257. [Semiglazov V.F., Ailamazyan E.K., Bailyuk Ye.N., Niauri D.A., Ivanov V.G., Manikhas A.G., Kvetnoi I.M., Soshnev A.A. Prophylaxis of breast cancer in patients with hyperproliferative pathologies of reproductive system. *Voprosy onkologii – Problems in Oncology*. 2006; 52 (3): 247–257 (in Russ.)]. <http://elibrary.ru/item.asp?id=13003090>.
 22. Патологическая анатомия: национальное руководство; под ред. М.А. Пальцева и др. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014: 1264. [Pathologic anatomy: national guidance; pod. red. M.A. Paltseva. M.: GEOTAR-Media Publ., 2014: 1264 (in Russ.)].
 23. Кунц Т.А., Карпухина К.В., Михайлова Е.С., Вараксин Н.А., Морозов Д.В., Аутеншлюс А.И. Цитокинопродуцирующий потенциал клеток крови при инвазивном протоковом раке и фиброаденоматозе молочной железы. *Цитокины и воспаление*. 2015; 14 (3): 47–52. [Kunts T.A., Karpukhina K.V., Mikhailova E.S., Varaksin N.A., Morozov D.V., Autenshlyus A.I. Cytokine-producing potential of blood cells in invasive ductal cancer and breast fibroadenoma. *Tsitokiny i vospalenie – Cytokines and Inflammation*. 2015; 14 (3): 47–52 (in Russ.)]. <http://elibrary.ru/item.asp?id=26511107>.
 24. Кунц Т.А., Карпухина К.В., Михайлова Е.С., Вараксин Н.А., Аутеншлюс А.И. Цитокиновый профиль супернатантов иммунокомпетентных клеток периферической крови и опухоли при инвазивном протоковом раке молочной железы. *Современные проблемы науки и образования*. 2016; 5: 103. [Kunts T.A., Karpukhina K.V., Mikhailova E.S., Varaksin N.A., Autenshlyus A.I. Cytokine pattern of supernatant of blood immunocompetent cells and tumor at invasive ductal carcinoma of the breast. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya – Modern Problems of Science and Education*. 2016; 5: 103 (in Russ.)]. <https://science-education.ru/ru/article/view?id=25296>.
 25. 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; 144 (1): 205–212. DOI: 10.1007/s10549-014-2862-5.
 26. Cichon M.A., Degnim A.C., Visscher D.W., Radisky D.C. Microenvironmental influences that drive progression from benign breast disease to invasive breast cancer. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia*. 2010; 15 (4): 389–397. DOI: 10.1007/s10911-010-9195-8.

Поступила в редакцию 25.05.2017

Подписана в печать 15.05.2018

Аутеншлюс Александр Исаевич, д-р биол. наук, профессор, зав. центральной научно-исследовательской лабораторией (ЦНИЛ), НГМУ; гл. науч. сотрудник, НИИ МББ, г. Новосибирск.

Кунц Татьяна Анатольевна, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, ЦНИЛ, НГМУ, г. Новосибирск.

Карпухина Ксения Викторовна, науч. сотрудник, НИИ МББ, г. Новосибирск.

Михайлова Елена Семеновна, науч. сотрудник, ЦНИЛ, НГМУ; ст. науч. сотрудник, НИИ МББ, г. Новосибирск.

Вараксин Николай Анатольевич, зав. лабораторией, ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирская область, р.п. Кольцово.

Маринкин Игорь Олегович, д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой, НГМУ, г. Новосибирск.

✉ Аутеншлюс Александр Исаевич, e-mail: lpcip@211.ru.

УДК 618.19-006-097.1:577.112.853

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2018-3-5-12>

For citation: Autenshlyus A.I., Kunts T.A., Karpukhina K.V., Mikhailova E.S., Varaksin N.A., Marinkin I.O. The effect of cancertoembryonic antigen on cytokine production by immunocompetent blood cells in patients with breast cancer. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2018; 17 (2): 5–12.

The effect of cancertoembryonic antigen on cytokine production by immunocompetent blood cells in patients with breast cancer

Autenshlyus A.I.^{1,2}, Kunts T.A.¹, Karpukhina K.V.²,
Mikhailova E.S.^{1,2}, Varaksin N.A.³, Marinkin I.O.¹

¹ Novosibirsk State Medical University (NSMU)

52, Krasny Av., Novosibirsk, 630091, Russian Federation

² *Institute of Molecular Biology and Biophysics (IMBB)
2/12, Timakov Str., Novosibirsk, 630117, Russian Federation*

³ *JSC "Vector-best"
Koltsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russian Federation*

ABSTRACT

Aim. Investigation of the influence of canceroembryonic antigen (CEA) on the immune cells in patients with breast tumors.

Materials and methods. Peripheral blood of 67 patients with invasive ductal carcinoma ($n = 44$), fibroadenoma ($n = 12$) and breast pre-cancer ($n = 11$). In the supernatants of the blood cells cytokine production induced by CEA was determined by ELISA.

Results. It was found that CEA stimulated production of IL-6, IL-8, IL-10, IL-1 β , IL-1Ra, TNF α , G-CSF, GM-CSF and the protein MCP-1 by blood immune cells in patients with fibroadenoma compared with groups of patients with invasive ductal carcinoma and precancerous lesions. Stimulation index of CEA on cytokine production by immunocompetent cells in patients in these groups was lower than in groups of patients with fibroadenoma due to initially high levels of spontaneous cytokine production.

Results. In patients with fibroadenoma CEA was found to stimulate the production of IL-6, IL-8, IL-10, IL-1 β , IL-1Ra, TNF α , G-CSF, GM-CSF and MCP-1 compared with groups of patients with invasive ductal carcinoma and precancerous conditions. Indexes of the influence of CEA on cytokine production by immunocompetent cells in these groups was lower than in the fibroadenoma due to initially high spontaneous production of cytokines.

Conclusion. Evident spontaneous cytokine-producing function of immunocompetent blood cells was revealed in patients with invasive ductal carcinoma and precancerous conditions compared to patients with fibroadenoma. The differences between the indices of CEA influence on cytokine production in patients with malignant, benign and precancerous conditions can serve as a basis for the development of methods of differential diagnosis of breast tumors.

Key words: canceroembryonic antigen, cytokines, invasive ductal carcinoma, fibroadenoma, pre-cancer, breast.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCE OF FINANCING

The authors state that there is no funding for the study.

CONFORMITY WITH THE PRINCIPLES OF ETHICS

The study approved by the local ethics committee under the IMBB (Protocol No. 2 of 10.05.2017).

Received 25.05.2017

Accepted 15.05.2018

Autenshlyus Alexander I., DBSc, Professor, Head of Laboratory, NSMU; Chief Researcher, IMBB, Novosibirsk, Russian Federation.

Kunts Tatyana A., PhD, Senior Researcher, NSMU, Novosibirsk, Russian Federation.

Karpukhina Ksenia V., Researcher, IMBB, Novosibirsk, Russian Federation.

Mikhailova Elena S., Researcher, NSMU; Senior Researcher, IMBB, Novosibirsk, Russian Federation.

Varaksin Nikolay A., Head of Laboratory, JSC "Vector-best", Koltsovo, Novosibirsk Region, Russian Federation.

Marinkin Igor O., DM, Professor, Head of Department, NSMU, Novosibirsk, Russian Federation.

✉ **Autenshlyus Alexander I.**, e-mail: lpciip@211.ru.