

DOI: 10.21294/1814-4861-2019-18-2-35-43

УДК: 616.24-006.6-07:616-097.3:577.2

Для цитирования: Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Мун С.А., Гордеева Л.А., Костянко М.В., Магарилл Ю.А., Титов В.А., Вержбицкая Н.Е., Вафин И.А. Иммуноанализ антител к бензо[а]пирену, эстрадиолу и прогестерону в определении индивидуальных рисков возникновения рака лёгкого у мужчин. Сибирский онкологический журнал. 2019; 18 (2): 35–43. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-2-35-43.

For citation: Glushkov A.N., Polenok E.G., Mun S.A., Gordeeva L.A., Kostyanko M.V., Magarill Y.A., Titov V.A., Verzhbitskaya N.E., Vafin I.A. Immunoassay of antibodies to benzo[a]pyrene, estradiol and progesterone for determination of personal lung cancer risk in men. Siberian Journal of Oncology. 2019; 18 (2): 35–43. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-2-35-43.

## ИММУНОАНАЛИЗ АНТИТЕЛ К БЕНЗО[А]ПИРЕНУ, ЭСТРАДИОЛУ И ПРОГЕСТЕРОНУ В ОПРЕДЕЛЕНИИ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ РИСКОВ ВОЗНИКНОВЕНИЯ РАКА ЛЁГКОГО У МУЖЧИН

А.Н. Глушков<sup>1</sup>, Е.Г. Поленок<sup>1</sup>, С.А. Мун<sup>1</sup>, Л.А. Гордеева<sup>1</sup>, М.В. Костянко<sup>2</sup>,  
Ю.А. Магарилл<sup>3</sup>, В.А. Титов<sup>4</sup>, Н.Е. Вержбицкая<sup>4</sup>, И.А. Вафин<sup>5</sup>

Институт экологии человека, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углекислоты СО РАН», г. Кемерово, Россия<sup>1</sup>

Россия, г. Кемерово, 650065, пр. Ленинградский, 10. E-mail: stellamun@yandex.ru<sup>1</sup>

Институт фундаментальных наук, ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», г. Кемерово, Россия<sup>2</sup>

Россия, г. Кемерово, 650000, ул. Красная, 6<sup>2</sup>

ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г. Кемерово, Россия<sup>3</sup>

Россия, г. Кемерово, 650056, ул. Ворошилова, 22а<sup>3</sup>

ГБУЗ КО «Областной клинический онкологический диспансер», г. Кемерово, Россия<sup>4</sup>

Россия, г. Кемерово, 650036, ул. Волгоградская, 35<sup>4</sup>

Кемеровский областной центр крови, г. Кемерово, Россия<sup>5</sup>

Россия, г. Кемерово, 650066, пр. Октябрьский 22<sup>5</sup>

### Аннотация

Определение индивидуального риска возникновения рака лёгкого у мужчин является ключевым звеном в профилактике этого заболевания. **Цель исследования** – выявить значимость иммуноанализа антител, специфичных к бензо[а]пирену (Вр), эстрадиолу (Es) и прогестерону (Pg), в определении рисков возникновения рака лёгкого у мужчин с учётом возраста и курения. **Материал и методы.** С помощью полуквантитативного иммуноферментного анализа были изучены сывороточные антитела классов G и A, специфичные к Вр, Es и Pg, у 620 здоровых мужчин (среди них 279 курящих) и 827 больных раком лёгкого (среди них 627 курящих). **Результаты.** Риск рака лёгкого оказался максимальным у курящих мужчин старше 55 лет, OR=15,4 (11,5–20,8 CI 95 %). Риск заболевания в этой подгруппе оказался ещё более высоким, если уровни антител к Вр и к Es превышали таковые к Pg, OR=20 (10,5–38,1), однако снижался до OR=3,2 (2,0–5,0), если уровни антител к Вр и Es были ниже, чем таковые к Pg. **Заключение.** Иммуноанализ антител, специфичных к Вр, Es и Pg, рекомендуется использовать для определения риска рака лёгкого у мужчин.

**Ключевые слова:** рак лёгкого, антитела, бензо[а]пирен, эстрадиол, прогестерон, иммуноферментный анализ, риск, курение.

## IMMUNOASSAY OF ANTIBODIES TO BENZO[A]PYRENE, ESTRADIOL AND PROGESTERONE FOR DETERMINATION OF PERSONAL LUNG CANCER RISK IN MEN

A.N. Glushkov<sup>1</sup>, E.G. Polenok<sup>1</sup>, S.A. Mun<sup>1</sup>, L.A. Gordeeva<sup>1</sup>, M.V. Kostyanko<sup>2</sup>,  
Y.A. Magarill<sup>3</sup>, V.A. Titov<sup>4</sup>, N.E. Verzhbitskaya<sup>4</sup>, I.A. Vafin<sup>5</sup>

Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry SB RAS, Kemerovo, Russia<sup>1</sup>

10, Leningradsky Avenue, 650065-Kemerovo, Russia. E-mail: stellamun@yandex.ru<sup>1</sup>

Institute of Fundamental Sciences, Kemerovo State University, Kemerovo, Russia<sup>2</sup>

6, Krasnaya Street, 650000-Kemerovo, Russia<sup>2</sup>

Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russia<sup>3</sup>

22a, Voroshilov Street, 650056-Kemerovo, Russia<sup>3</sup>

Regional Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russia<sup>4</sup>

35, Volgogradskaya Street, 650036-Kemerovo, Russia<sup>4</sup>

Regional Center of Blood, Kemerovo, Russia<sup>5</sup>

22, Oktyabrsky Avenue, 650066-Kemerovo, Russia<sup>5</sup>

### Abstract

A personalized lung cancer risk assessment is important for disease prevention. **The aim of the study** was to estimate a significance of immunoanalysis of antibodies to benzo[a]pyrene, estradiol and progesterone for lung cancer risk prediction in men with respect to age and smoking. **Material and Methods.** Serum antibodies to benzo[a]pyrene, estradiol and progesterone in the blood serum of 620 healthy men (279 smokers) and 827 lung cancer patients (627 smokers) were studied using semi-quantitative enzyme immunoassay. **Results.** The high lung cancer risk was observed in smokers aged over 55 years: OR=15.4 (11.5–20.8 95 % CI). The lung cancer risk in this group of patients was significantly lower when their levels of antibodies to benzo[a]pyrene and to estradiol were lower than those to progesterone: OR=3.2 (2.0–5.0). The lung cancer risk was higher when the personal levels of antibodies to benzo[a]pyrene and to estradiol were higher than the levels of antibodies to progesterone: OR=20.0 (10.5–38.1). **Conclusion.** The immunoassay of the blood serum antibodies specific to benzo[a]pyrene, estradiol and progesterone could be useful for determination of the lung cancer risk in men.

**Key words:** lung cancer, antibodies, to benzo[a]pyrene, estradiol, progesterone, enzyme immunoassay, risk, smoking.

### Введение

Рак лёгкого (РЛ) – наиболее распространённое онкологическое заболевание у мужчин в России и в мире [1, 2]. Очевидными популяционными факторами риска возникновения РЛ являются пожилой возраст и курение. Вместе с тем определение индивидуальных рисков РЛ остаётся важной практической задачей. Одним из подходов к её решению является анализ аддуктов полициклических ароматических углеводородов, в частности бензо[а]пирена (Вр), с ДНК в ткани лёгкого и в циркулирующих лейкоцитах [3–5], а также анализ антител (АТ), специфичных к этим аддуктам, в сыворотке крови [6–9].

Учитывая возможность создания вакцин против химических канцерогенов окружающей среды для иммунопрофилактики рака [10–12], мы начали исследования АТ, специфичных к Вр, в сыворотке крови здоровых мужчин и больных РЛ. Одновременно анализировали АТ к эстрадиолу (Ес) и прогестерону (Рг), принимая во внимание взаимодействие Вр со стероидными гормонами в процессах инициации и промоции канцерогенеза [13–15] и перспективы применения селективных модуляторов эстрогеновых рецепторов в терапии РЛ [16]. Обнаружили, что сочетанное повышение

уровней АТ к Вр и Ес ассоциировано с РЛ в большей степени, чем каждого из них по отдельности, а одновременное повышение уровней АТ к Рг нивелирует сочетанный эффект АТ к Вр и Ес [17, 18]. Однако в предыдущих работах не учитывалось влияние факторов возраста и курения на риски возникновения РЛ при различных сочетаниях уровней исследуемых АТ.

**Цель исследования** – выявить значимость иммуноанализа АТ к Вр, Ес и Рг в определении рисков возникновения РЛ у мужчин с учётом возраста и курения.

### Материал и методы

В обследование было включено 1447 мужчин, из них в исследуемую группу – 827 мужчин с диагнозом немелкоклеточный РЛ, которые поступили на лечение в Областной клинический онкологический диспансер г. Кемерово. Диагноз РЛ в каждом случае был подтвержден морфологически, рентгенологически и эндоскопически. В группе больных РЛ было 672 курящих (81 %) и 155 некурящих (19 %). Медиана возраста мужчин в исследуемой группе – 61 год (интерквартильный размах – 57–66). В группу сравнения были включены 620 условно здоровых мужчин из Кемеровского

центра крови, не болеющих РЛ и другими заболеваниями дыхательных путей. Среди них было 279 (45 %) курящих мужчин и 341 (55 %) некурящий. Медиана возраста мужчин в группе сравнения – 50 лет (интерквартильный размах – 45–55,5).

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. Все лица, участвовавшие в исследовании, дали информированное письменное согласие на участие в нем.

Иммуноанализ АТ к Vp, Es и Pg классов А и G (IgA-Vp, IgA-Es, IgA-Pg, IgG-Vp, IgG-Es, IgG-Pg) проводили с помощью неконкурентного иммуноферментного анализа, подробная методика была описана ранее [19]. В качестве антигенов на полистирольные иммунологические планшеты были иммобилизованы конъюгаты Vp, Es и Pg с бычьим сывороточным альбумином (BSA). Конъюгат Vp-BSA был синтезирован по методике, описанной в работе [20]. Конъюгат Es-BSA был синтезирован путем присоединения BSA к эстрадиолхинонам, полученным окислением Es солью Фреми. Конъюгат Pg-BSA был получен путем конъюгации гемиглутарата 21-гидроксипрогестерона и BSA карбодииимидным способом. Иммунологические планшеты сенсibilизировали конъюгатами гаптен-BSA в течение ночи при комнатной температуре. Образцы сыворотки крови в разведении 1:20 для определения АТ класса А и 1:100 для определения АТ класса G вносили по 100 мкл в лунки планшета в дублях, инкубировали 1 ч при 37 °С на шейкере. Связавшиеся АТ выявляли с помощью козьих АТ против IgA (IgG) человека, меченных пероксидазой хрена (Novex, США), разведение конъюгата 1:10000, инкубировали 1 ч при 37 °С на шейкере. Регистрацию адсорбированных на планшете АТ проводили с помощью субстратного буфера, содержащего тетраметилбензидин (ТМВ, США), на фотометре Униплан (Пикон, Россия) при длине волны 450 нм. Уровни АТ выражали в относительных единицах и вычисляли по формуле

$$\text{IgA(G)-X} = (\text{OD}_{\text{X-BSA}} - \text{OD}_{\text{BSA}}) / \text{OD}_{\text{BSA}},$$

где X=Vp, Es, Pg;  $\text{OD}_{\text{X-BSA}}$  – связывание АТ с конъюгатом гаптен-BSA;  $\text{OD}_{\text{BSA}}$  – фоновое связывание с BSA.

Статистический анализ проводился с помощью пакета программ Statistica 6.0 (StatSoftInc, USA). Ненормальный характер распределения количественных показателей определили с помощью критерия Шапиро – Уилка и в дальнейшем статистически значимые различия между группами выявляли с помощью непараметрического критерия  $\chi^2$  с поправкой Йейтса на непрерывность

вариации. При расчете критерия  $\chi^2$  исследуемые показатели группировались в четырехпольную таблицу (d.f.=1). За критический уровень значимости принималось значение  $p < 0,05$ . Для выявления пороговых значений факторов возраста и уровней АТ (cut-off) был проведен ROC-анализ [21]. Ассоциации факторов возраста, курения и исследуемых АТ с РЛ оценивали на основании величины отношения шансов (odds ratio, OR) с доверительным интервалом (CI) при 95 % уровне значимости.

## Результаты и обсуждение

### Ассоциации возраста

#### и курения с раком лёгкого

Исследовали распределение здоровых мужчин и больных РЛ по возрасту и курению по отдельности и в возможных сочетаниях (табл. 1). Сначала с помощью ROC-анализа определили пограничное значение возраста (cut-off), по которому сравниваемые группы имели наибольшие различия. Таковым оказались 55 лет. Как и ожидалось, мужчин старше 55 лет среди больных РЛ оказалось значительно больше (79 %), чем среди здоровых (25 %,  $p < 0,0001$ ). При этом показатель OR составил 11,3. Среди больных РЛ курящих мужчин (81,3 %) оказалось больше, чем среди здоровых (45 %,  $p < 0,0001$ ) с  $\text{OR} = 5,3$ .

При анализе четырёх возможных сочетаний факторов возраста и курения выяснили следующее: у мужчин моложе 55 лет значение OR не превышало 1 ( $\text{OR} = 0,1$  и  $\text{OR} = 0,4$  для некурящих и курящих соответственно, позиции 3.1 и 3.2). Однако при сравнении этих двух подгрупп обнаружили значительную разницу – курящих мужчин среди здоровых было в 2 раза больше, чем среди больных (34,8 % против 17,4 %), а некурящих – в 12 раз больше (40,2 % против 3,4 %,  $p < 0,0001$ ). Это означает, что, несмотря на низкие значения OR, курение повышает риск РЛ у мужчин моложе 55 лет.

У некурящих мужчин старше 55 лет  $\text{OR} = 1,0$  (позиция 3.3) этот показатель оказался больше, чем у молодых курящих мужчин ( $p < 0,0001$ ). Максимальное значение  $\text{OR} = 15,4$  было у курящих мужчин старше 55 лет (позиция 3.4). То есть совместное действие факторов курения и пожилого возраста превышает таковое каждого из них по отдельности ( $p < 0,0001$ ).

### Ассоциации антител к Vp, Es и Pg с раком лёгкого

В каждом образце сыворотки крови анализировали одновременно содержание АТ, специфичных к Vp, Es и Pg, и рассчитывали соотношения их уровней. С помощью ROC-анализа определяли пограничные значения уровней исследуемых АТ и их соотношений (cut-off), по которым сравниваемые группы имели наибольшие различия. Распределение мужчин в сравниваемых группах по низким ( $\leq$ ) и высоким ( $>$ ) уровням АТ и их соотношений представлено в табл. 2.

Таблица 1

## Частота встречаемости факторов риска среди здоровых мужчин и больных раком легкого

Сочетания факторов		Больные РЛ (n=820)	Здоровые (n=620)	$\chi^2$ (p)	OR (95 % CI)
1.1	Возраст $\leq$ 55 лет	174 (21,0 %)	465 (75,0 %)	<b>416,2</b>	0,1 (0,07–0,1)
1.2	Возраст $>$ 55 лет	653 (79,0 %)	155 (25,0 %)	<b>(&lt;0,0001)</b>	11,3 (8,8–14,4)
2.1	Курение –	155 (18,7 %)	341 (55,0 %)	<b>205,2</b>	0,2 (0,1–0,2)
2.2	Курение +	672 (81,3 %)	279 (45,0 %)	<b>(&lt;0,0001)</b>	5,3 (4,2–6,7)
3.1	Возраст $\leq$ 55 лет Курение –	28 (3,4 %)	249 (40,2 %)	<b>307,2</b> <b>(&lt;0,0001)</b>	<b>0,1 (0,04–0,08)</b>
3.2	Возраст $\leq$ 55 лет Курение +	146 (17,7 %)	216 (34,8 %)	<b>54,9</b> <b>(&lt;0,0001)</b>	<b>0,4 (0,3–0,5)</b>
3.3	Возраст $>$ 55 лет Курение –	127 (15,4 %)	92 (14,8 %)	0,04 (0,844)	1,0 (0,8–1,4)
3.4	Возраст $>$ 55 лет Курение +	526 (63,6 %)	63 (10,2 %)	<b>417,1</b> <b>(&lt;0,0001)</b>	<b>15,4</b> <b>(11,5–20,8)</b>

Таблица 2

## Частота встречаемости случаев с низким и высоким уровнями антител к бензо[а]пирену, эстрадиолу и прогестерону и их соотношений в сыворотке крови здоровых мужчин и больных раком легкого

Соотношения антител		Больные РЛ (n=820)	Здоровые (n=620)	$\chi^2$ . (p)	OR (95 % CI)
1.1	IgG-Bp $\leq$ 5	310 (37,5 %)	308 (49,7 %)	<b>21,0</b>	<b>0,6 (0,5–0,8)</b>
	IgG-Bp $>$ 5	517 (62,5 %)	312 (50,3 %)	<b>(&lt;0,0001)</b>	<b>1,6 (1,3–2,0)</b>
1.2	IgG-Es $\leq$ 6	395 (47,8 %)	356 (57,4 %)	<b>12,9</b>	<b>0,7 (0,5–0,9)</b>
	IgG-Es $>$ 6	432 (52,2 %)	264 (42,6 %)	<b>(0,0003)</b>	<b>1,5 (1,2–1,8)</b>
1.3	IgG-Pg $\leq$ 5	467 (56,5 %)	367 (59,2 %)	0,9 (0,33)	0,9 (0,7–1,1)
	IgG-Pg $>$ 5	360 (43,5 %)	253 (40,8 %)		1,1 (0,9–1,4)
2.1	IgG-Bp /IgG-Es $\leq$ 1	408 (49,3 %)	314 (50,6 %)	0,2 (0,66)	0,9 (0,8–1,2)
	IgG-Bp /IgG-Es $>$ 1	419 (50,7 %)	306 (49,4 %)		1,1 (0,9–1,3)
2.2	IgG-Bp /IgG-Pg $\leq$ 1,5	433 (52,4 %)	395 (63,7 %)	<b>42,5</b>	<b>0,5 (0,4–0,6)</b>
	IgG-Bp /IgG-Pg $>$ 1,5	494 (47,6 %)	225 (36,3 %)	<b>(&lt;0,0001)</b>	<b>2,0 (1,6–2,5)</b>
2.3	IgG-Es /IgG-Pg $\leq$ 1,5	459 (55,5 %)	392 (63,2 %)	<b>8,4</b>	<b>0,7 (0,6–0,9)</b>
	IgG-Es /IgG-Pg $>$ 1,5	368 (44,5 %)	228 (36,8 %)	<b>(0,004)</b>	<b>1,4 (1,1–1,7)</b>
3.1	IgA-Bp $\leq$ 3	382 (46,2 %)	372 (60,0 %)	<b>26,5</b>	<b>0,6 (0,5–0,7)</b>
	IgA-Bp $>$ 3	445 (53,8 %)	248 (40,0 %)	<b>(&lt;0,0001)</b>	<b>1,7 (1,4–2,2)</b>
3.2	IgA-Es $\leq$ 3	372 (45,0 %)	381 (61,5 %)	<b>37,8</b>	<b>0,5 (0,4–0,6)</b>
	IgA-Es $>$ 3	455 (55,0 %)	239 (38,5 %)	<b>(&lt;0,0001)</b>	<b>1,9 (1,6–2,4)</b>
3.3	IgA-Pg $\leq$ 2	332 (40,1 %)	301 (48,5 %)	<b>9,8</b>	<b>0,7 (0,6–0,9)</b>
	IgA-Pg $>$ 2	495 (59,9 %)	319 (51,5 %)	<b>(0,002)</b>	<b>1,4 (1,1–1,7)</b>
4.1	IgA-Bp /IgA-Es $\leq$ 1	432 (52,2 %)	264 (42,6 %)	<b>12,9</b>	<b>1,5 (1,2–1,8)</b>
	IgA-Bp /IgA-Es $>$ 1	395 (47,8 %)	356 (57,4 %)	<b>(0,0003)</b>	<b>0,7 (0,5–0,8)</b>
4.2	IgA-Bp /IgA-Pg $\leq$ 1	271 (32,8 %)	251 (40,5 %)	<b>8,8</b>	<b>0,7 (0,6–0,9)</b>
	IgA-Bp /IgA-Pg $>$ 1	556 (67,2 %)	369 (59,5 %)	<b>(0,003)</b>	<b>1,4 (1,1–1,7)</b>
4.3	IgA-Es /IgA-Pg $\leq$ 1	217 (26,2 %)	283 (45,6 %)	<b>58,2</b>	<b>0,4 (0,3–0,5)</b>
	IgA-Es /IgA-Pg $>$ 1	610 (73,8 %)	337 (54,4 %)	<b>(&lt;0,0001)</b>	<b>2,4 (1,9–2,9)</b>

Высокие уровни IgG-Bp и IgG-Es, а также высокие значения соотношений IgG-Bp/IgG-Pg и IgG-Es/IgG-Pg у больных РЛ встречались значительно чаще, чем у здоровых мужчин. По уровням IgG-Pg и соотношению IgG-Bp/IgG-Es значимых различий не выявлено. Уровни IgA ко всем трём гаптанам оказались выше у больных РЛ, так же, как и соотношения IgA-Bp/IgA-Pg и IgA-Es/IgA-Pg. Высокие значения соотношения IgA-Bp/IgA-Es у больных встречались реже, чем у здоровых мужчин. Наиболее значимые различия между сравниваемыми группами выявлены при высоких значениях соотношений

отношений IgG-Bp/IgG-Pg  $>$  1,5 (OR=2,0) и IgA-Es/IgA-Pg  $>$  1,0 (OR=2,4). Соответственно, низкие значения этих соотношений у больных РЛ встречались реже, чем у здоровых мужчин (OR=0,5 и OR=0,4).

Однако эти результаты оказались верными только при определённых сочетаниях указанных соотношений (табл. 3). Риск возникновения РЛ был низким (OR=0,4) только при сочетании низких значений IgG-Bp/IgG-Pg  $\leq$  1,5 и IgA-Es/IgA-Pg  $<$  1. Высокий риск РЛ (OR=2,1) выявлен только при сочетании высоких значений этих соотношений.

Таблица 3

**Частота встречаемости случаев в четырех наиболее значимых сочетаниях соотношений исследуемых антител в сыворотке крови здоровых мужчин и больных раком легкого**

Сочетание соотношений антител	Больные РЛ (n=820)	Здоровые (n=620)	$\chi^2$ , (p)	OR (95 % CI)
1 IgG-Bp/IgG-Pg $\leq$ 1,5 IgA-Es/IgA-Pg $\leq$ 1,0	148 (17,9 %)	205 (33,1 %)	<b>43,4</b> <b>(&lt;0,0001)</b>	<b>0,4</b> <b>(0,3–0,6)</b>
2 IgG-Bp/IgG-Pg $>$ 1,5 IgA-Es/IgA-Pg $\leq$ 1,0	69 (8,3 %)	78 (12,6 %)	<b>6,5</b> <b>(0,01)</b>	<b>0,6</b> <b>(0,4–0,9)</b>
3 IgG-Bp/IgG-Pg $\leq$ 1,5 IgA-Es/IgA-Pg $>$ 1,0	285 (34,5 %)	190 (30,6 %)	2,2 (0,14)	1,2 (0,9–1,5)
4 IgG-Bp/IgG-Pg $>$ 1,5 IgA-Es/IgA-Pg $>$ 1,0	325 (39,3 %)	147 (23,7 %)	<b>35,8</b> <b>(&lt;0,0001)</b>	<b>2,1</b> <b>(1,7–2,6)</b>

Таблица 4

**Частота встречаемости низких и высоких значений соотношений исследуемых антител в указанных сочетаниях в зависимости от возраста и курения у здоровых мужчин и больных раком легкого**

Сочетания соотношений антител	Больные РЛ (n=827)				Здоровые мужчины (n=620)			
	Возраст, лет		Курение		Возраст, лет		Курение	
	n=174	n=653	n=155	n=672	n=465	n=155	n=341	n=279
	$\leq$ 55	$>$ 55	–	+	$\leq$ 55	$>$ 55	–	+
1 IgG-Bp/IgG-Pg $\leq$ 1,5 IgA-Es/IgA-Pg $\leq$ 1,0	23 (13,2 %)	125 (19,1 %)	30 (19,4 %)	118 (17,6 %)	140 (30,1 %)	65 (41,9 %)	107 (31,4 %)	98 (35,1 %)
2 IgG-Bp/IgG-Pg $>$ 1,5 IgA-Es/IgA-Pg $>$ 1,0	74 (42,5 %)	251 (38,4 %)	58 (37,4 %)	267 (39,7 %)	124 (26,7 %)	23 (14,8 %)	82 (24,0 %)	65 (23,3 %)
$\chi^2$ , (p)	2,8 (0,093)		0,2 (0,617)		<b>10,9 (&lt;0,001)</b>		0,3 (0,577)	

Если одно из них было высоким, а другое низким, разница между сравниваемыми группами либо отсутствовала (p=0,14, позиция 3), либо была значительно менее достоверной (p<0,01, позиция 2).

Это означает, что одновременное превышение уровней IgG-Bp и IgA-Es над уровнями АТ к Рg является эндогенным фактором риска РЛ. И наоборот, превышение уровней АТ к Рg над уровнями и IgG-Bp, и IgA-Es является эндогенным протективным фактором по отношению к РЛ. Учитывая известные механизмы действия указанных соединений, можно утверждать, что IgG-Bp стимулируют инициацию канцерогенеза, IgA-Es стимулируют инициацию и промоцию, а IgG-Pg и IgA-Pg тормозят процессы промоции. Вероятно, описанные эффекты обусловлены способностью указанных АТ повышать содержание в сыворотке крови Bp, Es и Pg, как это было выявлено в экспериментах по иммунизации животных этими соединениями [22–25].

Превышение уровней АТ к Рg над уровнями АТ к Bp и к Es можно обозначить как протективный (антиканцерогенный) иммунологический фенотип. Превышение уровней АТ к Bp и к Es над уровнями АТ к Рg можно обозначить как проканцерогенный иммунологический фенотип.

**Влияние возраста и курения на соотношение уровней антител к Bp и Es к уровням антител к Рg**

Распределение мужчин в сравниваемых группах по сочетаниям соотношений IgG-Bp/IgG-Pg и IgA-Es/IgA-Pg в зависимости от возраста и курения представлено в табл. 4. У больных РЛ частота обнаружения указанных сочетаний не зависела ни от возраста, ни от курения (p>0,05). У здоровых мужчин не выявлено искомой зависимости от курения (p>0,05). В то же время у здоровых мужчин старше 55 лет сочетанное превышение уровней IgG-Bp и IgA-Es над уровнями АТ к Рg обнаруживали достоверно реже, чем у здоровых мужчин моложе 55 лет (p<0,001).

Однако превышение уровней АТ к Рg над уровнями АТ к Bp и Es (позиция 1) встречалось чаще у здоровых мужчин, чем у больных РЛ как в возрасте до 55 лет (30,1 % против 13,2 %), так и в возрасте старше 55 лет (41,9 % против 19,1 %), как у некурящих (31,4% против 19,4 %), так и у курящих (35,1 % против 17,6 %) с высокой степенью статистической значимости (p<0,0001). И наоборот, превышение уровней АТ к Bp и к Es над уровнями АТ к Рg (позиция 2) встречалось статистически значимо чаще у больных РЛ независимо от возраста и курения.

**Частота встречаемости случаев в 8 возможных комбинациях трех факторов риска возникновения рака легкого: возраст, курение, особенности образования исследуемых антител**

Комбинации факторов риска РЛ	Больные РЛ (n=827)	Здоровые мужчины (n=620)	$\chi^2$ (p)	OR (95 % CI)
1.1 Возраст $\leq 55$				
1.2 Курение –	3	67		0,03
1.3 IgG-Vp/IgG-Pg $\leq 1,5$ IgA-Es/IgA-Pg $\leq 1,0$	(0,4 %)	(10,8 %)	81,7 (<0,0001)	(0,01–0,1)
2.1 Возраст $\leq 55$				
2.2 Курение –	11	69		0,1
2.3 IgG-Vp/IgG-Pg $> 1,5$ IgA-Es/IgA-Pg $> 1,0$	(1,3 %)	(11,1 %)	63,28 (<0,0001)	(0,06–0,2)
3.1 Возраст $\leq 55$				
3.2 Курение +	20	73		0,2
3.3 IgG-Vp/IgG-Pg $\leq 1,5$ IgA-Es/IgA-Pg $\leq 1,0$	(2,4 %)	(11,8 %)	50,03 (<0,0001)	(0,1–0,3)
4.1 Возраст $\leq 55$				
4.2 Курение +	63	55		0,9
4.3 IgG-Vp/IgG-Pg $> 1,5$ IgA-Es/IgA-Pg $> 1,0$	(7,6 %)	(8,9 %)	0,58 (0,444)	(0,6–1,2)
5.1 Возраст $> 55$				
5.2 Курение –	27	40		0,5
5.3 IgG-Vp/IgG-Pg $\leq 1,5$ IgA-Es/IgA-Pg $\leq 1,0$	(3,3 %)	(6,5 %)	7,44(0,0064)	(0,3–0,8)
6.1 Возраст $> 55$				
6.2 Курение –	47	13		2,8
6.3 IgG-Vp/IgG-Pg $> 1,5$ IgA-Es/IgA-Pg $> 1,0$	(5,7 %)	(2,1 %)	10,58 (0,001)	(1,5–5,2)
7.1 Возраст $> 55$				
7.2 Курение +	98	25		3,2
7.3 IgG-Vp/IgG-Pg $\leq 1,5$ IgA-Es/IgA-Pg $\leq 1,0$	(11,9 %)	(4,0 %)	26,85 (<0,0001)	(2,0–5,0)
8.1 Возраст $> 55$				
8.2 Курение +	204	10		20,0
8.3 IgG-Vp/IgG-Pg $> 1,5$ IgA-Es/IgA-Pg $> 1,0$	(24,7 %)	(1,6 %)	147,63 (<0,0001)	(10,5–38,1)

Иными словами, иммунологический фенотип, протективный (антиканцерогенный) или проканцерогенный, является конституциональной характеристикой индивидуума, не зависящей (или слабо зависящей) от внешней канцерогенной нагрузки (курения) и, вероятно, способной изменяться с возрастом.

**Комбинированный анализ факторов возраста, курения и особенностей образования антител к Vp, Es и Pg у здоровых мужчин и больных РЛ**

В табл. 5 представлено распределение мужчин в сравниваемых группах по восьми возможным комбинациям факторов возраста, курения и сочетаний соотношений исследуемых АТ IgG-Vp/IgG-Pg и IgA-Es/IgA-Pg, наиболее ассоциированных с РЛ. У некурящих мужчин моложе 55 лет (позиция 1 и 2) риски возникновения РЛ были минимальными (OR=0,03 и OR=0,1) независимо от величины указанных соотношений (разница между этими подгруппами по критерию Пирсона  $\chi^2$  статистически не значима).

Среди курящих мужчин моложе 55 лет с протективным иммунофенотипом (позиция 3) здоровых оказалось достоверно больше, чем больных РЛ (11,8 % против 2,4 %,  $p < 0,0001$ ). При этом значение OR составило всего 0,2 (0,1–0,3), что значительно меньше, чем при комбинации только факторов возраста и курения без учёта иммунофенотипа, OR=0,4 (0,3–0,5) – позиция 3.2 в табл. 1. В этой же возрастной подгруппе курящих мужчин с проканцерогенным иммунофенотипом OR составил 0,9 (0,6–1,2), что значительно больше в аналогичном сравнении.

Такие же закономерности прослеживались и у мужчин старше 55 лет, некурящих (позиции 5 и 6) и курящих (позиции 7 и 8). При наличии протективного иммунофенотипа OR снижен, а при наличии проканцерогенного иммунофенотипа OR повышен по сравнению с значениями, представленными в табл. 1. В частности, у курящих мужчин старше 55 лет без учёта иммунофенотипа OR=15,4 (11,5–20,8), а у носителей протективного

фенотипа OR=3,2 (2,0–5,0). Максимальное значение риска РЛ оказалось у курящих мужчин старше 55 лет при наличии проканцерогенного фенотипа, OR=20,0 (10,8–38,1). Различия между сравниваемыми группами по позициям 7 и 8 в табл. 5 высоко значимы ( $p < 0,0001$ ).

Иммуноанализ АТ к Вр одновременно с анализом АТ к Es и Pг более информативен по сравнению с известными методами анализа аддуктов химических канцерогенов с ДНК и АТ к этим аддуктам. При анализе аддуктов в лейкоцитах крови или бронхиальных клетках значения OR для РЛ составляли от 1,86 до 4,16 в зависимости от возраста и курения [3, 5]. В большинстве известных исследований АТ к аддуктам ПР-ДНК указаны только различия по их содержанию у людей с разной канцерогенной нагрузкой или с РЛ и хронической деструктивной болезнью лёгких [6, 8, 9]. Взаимосвязь с канцерогенной нагрузкой, выраженная в OR, приведена только в работе S. Petruzzelli et al. [7], которые рассматривали ассоциации указанных АТ с проживанием в урбанизированном регионе (OR=1,49), с курением (OR=1,25), с семейной историей РЛ (OR=1,3).

### Заключение

В настоящем исследовании показано значительное повышение риска возникновения РЛ при сочетанном воздействии факторов возраста и ку-

рения у курящих мужчин старше 55 лет OR=15,4 (11,5–20,8). Вместе с тем риски РЛ зависят от индивидуальных особенностей специфических иммунных реакций на канцерогены окружающей среды и эндогенные стероидные гормоны. В частности, превышение уровней IgG-Вр и IgA-Es над уровнями IgG-Pг и IgA-Pг сопровождалось повышением OR до 20,0 (10,5–38,1). Однако превышение уровней АТ к Pг над уровнями АТВр и Es сопровождалось снижением OR до 3,2 (2,0–5,0). Подобное влияние индивидуальных иммунологических реакций наблюдалось и у мужчин моложе 55 лет независимо от курения. Таким образом, предлагаемый метод иммуноанализа можно рекомендовать в качестве дополнительного критерия в определении индивидуальных рисков возникновения РЛ.

Учитывая всё большее применение молекулярно-генетических методов определения индивидуальных рисков РЛ, авторы считают целесообразным исследовать АТ к Вр, Es и Pг в комплексе с анализом полиморфных вариантов генов ферментов биотрансформации и репарации ДНК. Принимая во внимание экспериментально доказанную способность АТ к Вр, Es и Pг модулировать содержание этих соединений в сыворотке крови, представляется перспективным исследовать гормональные механизмы участия указанных АТ в канцерогенезе человека.

### ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2015 г. (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2017. 250. [Kaprin A.D., Starinskii V.V., Petrova G.V. Malignant tumors in Russia in 2015 (Morbidity and mortality). Moscow, 2017. 250. (in Russian)].
2. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer Statistics, 2017. CA Cancer J Clin. 2017 Jan; 67 (1): 7–30. doi: 10.3322/caac.21387.
3. Peluso M., Munnia A., Hoek G., Krzyzanowski M., Veglia F., Airoldi L., Astrup H., Dunning A., Garte S., Hainaut P., Malaveille C., Gormally E., Matullo G., Overvad K., Raaschou-Nielsen O., Clavel-Chapelon F., Linseisen J., Boeing H., Trichopoulos A., Trichopoulos D., Kladidi A., Palli D., Krogh V., Tumino R., Panico S., Bueno-De-Mesquita H.B., Peeters P.H., Kumle M., Gonzalez C.A., Martinez C., Dorransoro M., Baricarte A., Navarro C., Quiros J.R., Berglund G., Janzon L., Jarvholm B., Day N.E., Key T.J., Saracci R., Kaaks R., Riboli E., Vineis P. DNA adducts and lung cancer risk: a prospective study. Cancer Res. 2005 Sep 1; 65 (17): 8042–8. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-04-3488.
4. Grigoryeva E.S., Kokova D.A., Gratchev A.N., Cherdyntsev E.S., Buldakov M.A., Kzhyshkowska J.G., Cherdyntseva N.V. Smoking-related DNA adducts as potential diagnostic markers of lung cancer: new perspectives. Exp Oncol. 2015 Mar; 37 (1): 5–12.
5. Ceppi M., Munnia A., Cellai F., Bruzzone M., Peluso M.E.M. Linking the generation of DNA adducts to lung cancer. Toxicology. 2017 Sep 1; 390: 160–166. doi: 10.1016/j.tox.2017.09.011.
6. Pulerà N., Retruzzelli S., Celi A., Puntoni R., Fornai E., Säwe U., Paoletti P., Giuntini C. Presence and persistence of serum anti-benzo[a]pyrenediol epoxide-DNA adduct antibodies in smokers: effects of smoking reduction and cessation. Int J Cancer. 1997; 70 (2): 145–149.
7. Petruzzelli S., Celi A., Pulerà N., Baliva F., Viegi G., Carrozzi L., Ciacchini G., Bottai M., Di Pede F., Paoletti P., Giuntini C. Serum antibodies to benzo[a]pyrenediol epoxide-DNA adducts in the general population: effects of air pollution, tobacco smoking, and family history of lung diseases. Cancer Res. 1998; 58(18): 4122–4126.
8. Galati R., Zijno A., Crebelli R., Falasca G., Tomei F., Iecher F., Carta P., Verdina A. Defection of antibodies to benzo[a]pyrenediol epoxide-DNA adducts in sera from individuals exposed to low doses of polycyclic aromatic hydrocarbons. J Exp Clin Cancer Res. 2001; 20 (3): 359–364.
9. Pauk N., Klimesova S., Kara J., Topinka J., Labaj J. The relevance of monitoring of antibodies against polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) and PAH-DNA adducts in serum in relation to lung cancer and chronic obstructive pulmonary disease (COPD). Neoplasma. 2013; 60 (2): 182–187. doi: 10.4149/neo\_2013\_024.
10. Silbart L.K., Rasmussen H.V., Oliver A.R. Immunoprophylactic intervention in chemical toxicity and carcinogenicity. Vet Hum Toxicol. 1997; 39 (1): 37–43.
11. De Buck S.S., Muller C.P. Immunoprophylactic approaches against chemical carcinogenesis. Vaccine. 2005; 23 (17–18): 2403–2406. doi: 10.1016/j.vaccine.2005.01.020.
12. Schellenberger M.T., Farinelle S., Williè S., Muller C.P. Evaluation of adjuvants for a candidate conjugate vaccine against benzo[a]pyrene. Hum Vaccin. 2011; 7 (1): 166–173. doi: 10.4161/hv.7.0.14579.
13. Fucic A., Gamulin M., Ferencic Z., Rokotov D.S., Katic J., Bartonova A., Lovasic I.B., Merlo D.F. Lung cancer and environmental chemical exposure: a review of our current state of knowledge with reference to the role of hormones and hormone receptors as an increased risk factor for developing lung cancer in man. Toxicol Pathol. 2010 Oct; 38 (6): 849–855. doi: 10.1177/0192623310378136.
14. Chen Z., Zhang Y., Yang J., Jin M., Wang X.W., Shen Z.Q., Qiu Z., Zhao G., Wang J., Li J.W. Estrogen promotes benzo[a]pyrene-induced lung carcinogenesis through oxidative stress damage and cytochrome c-mediated caspase-3 activation pathway in female mice. Cancer Lett. 2011 Sep 1; 308 (1): 14–22. doi: 10.1016/j.canlet.2011.04.007.
15. Lin S., Lin C.J., Hsieh D.P., Li L.A. ER $\alpha$  phenotype, estrogen level, and benzo[a]pyrene exposure modulate tumor growth and metabolism of lung adenocarcinoma cells. Lung Cancer. 2012 Mar; 75 (3): 285–292. doi: 10.1016/j.lungcan.2011.08.010.
16. Давыдов М.И., Бозуш Т.А., Полоцкий Б.Е., Тюляндин С.А. Эстрогеновые рецепторы  $\beta$  – новая мишень в терапии немелкоклеточного рака легкого. Вестник Российской Академии наук. 2012; 67 (2): 16–22. [Davidov M.I., Bogush T.A., Polotskiy B.E., Tyulyandin S.A. Estrogen receptors  $\beta$  – new target in cellular lung cancer treatment. Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2012; 67 (2): 16–22. (in Russian)].
17. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Вержбицкая Н.Е., Титов В.А., Вафин И.А., Рагожина С.Е. Антитела к химическим канцерогенам и стероидным гормонам у больных раком легкого. Российский

иммунологический журнал. 2014; 8 (2): 219–227. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Verzhbitskaja N.E., Titov V.A., Vafin I.A., Ragozhina S.E. Antibodies to chemical carcinogenes and steroid hormones in lung cancer patients. Russian Journal of Immunology. 2014; 8 (2): 219–227. (in Russian)].

18. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Костяно М.В., Титов В.А., Вафин И.А., Рагожина С.Е. Взаимное влияние антител к бензо[а]пирену, эстрадиолу и прогестерону на риски возникновения рака легкого. Российский иммунологический журнал. 2015; 9 (3): 343–349. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Kostyanko M.V., Titov V.A., Vafin I.A., Ragozhina S.E. Mutual effects of antibodies to benzo[a]pyrene, estradiol and progesterone on the lung cancer risks. Russian Journal of Immunology. 2015; 9 (3): 343–349. (in Russian)].

19. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Аносова Т.П., Савченко Я., Баканова М.Л., Минина В.И., Мун С.А., Ларин С.А., Костяно М.В. Сывороточные антитела к бензо[а]пирену и хромосомные aberrации в лимфоцитах периферической крови у рабочих углеперерабатывающего предприятия. Российский иммунологический журнал. 2011; 5 (1): 39–44. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Anosova T.P., Savchenko Ya.A., Bakanova M.L., Minina V.I., Mun S.A., Larin S.A., Kost'anko M.V. Serum antibodies to benzo[a]pyrene and chromosomal aberrations in lymphocytes peripheral blood at the workers of coal processing enterprise. Russian Journal of Immunology. 2011; 5 (1): 39–44. (in Russian)].

20. Glushkov A.N., Kostjanko M.V., Chernov S.V., Vasilchenko I.L. Synthesis of polycyclic aromatic hydrocarbon-protein conjugates for preparation and immunoassay of antibodies. Russ J Immunol. 2002; 7 (1): 42–46.

21. Hajian-Tilaki K. Receiver Operating Characteristic (ROC) Curve Analysis for Medical Diagnostic Test Evaluation. Caspian J Intern Med. 2013; 4 (2): 627–635.

22. Grova N., Prodhomme E.J., Schellenberger M.T., Farinelle S., Muller C.P. Modulation of carcinogen bioavailability by immunisation with benzo[a]pyrene – conjugate vaccines. Vaccine. 2009; 27 (31): 4142–4151. doi: 10.1016/j.vaccine.2009.04.052.

23. Rawlings N.C., Kennedy S.W., Henricks D.M. The active immunization of the cyclic ewe against an estrone protein conjugate. Theriogenology. 1979; 12 (3): 139–151. doi: 10.1016/0093-691X(79)90080-3.

24. Hillier S.G., Groom G.V., Boyns A.R., Cameron E.H. Effects of active immunisation against steroids upon circulating hormone concentrations. J Steroid Biochem. 1975; 6 (3–4): 529–35. doi: 10.1016/0022-4731(75)90183-1.

25. Schwartz U., Dyrenfurth I., Khalaf S., Vande Wiele R.L., Ferin M. A comparison of the effects of active immunization of female rhesus monkeys to estradiol-17 or progesterone-20-protein conjugates. J Steroid Biochem. 1975; 6 (3–4): 541–545.

Поступила/Received 22.09.18  
Принята в печать/Accepted 21.11.18

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Глушков Андрей Николаевич**, доктор медицинских наук, профессор, директор Института экологии человека, Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН (г. Кемерово, Россия). SPIN-код: 9536-853. Author ID (Scopus): 7006323832. Researcher ID (WOS): Q-5985-2016.

**Поленок Елена Геннадьевна**, кандидат фармацевтических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунохимии Института экологии человека, Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН (г. Кемерово, Россия). SPIN-код: 3925-0185. Author ID (Scopus): 6506567994. Researcher ID (WOS): Q-5381-2016.

**Мун Стелла Андреевна**, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории иммуногенетики Института экологии человека, Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН (г. Кемерово, Россия). E-mail: stellamun@yandex.ru. SPIN-код: 5579-8939. Author ID (Scopus): 7101645456. ORCID: 0000-0002-5530-3469. Researcher ID (WOS): J-6484-2018.

**Гордеева Людмила Александровна**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммуногенетики Института экологии человека, Федеральный исследовательский центр угля и углехимии СО РАН (г. Кемерово, Россия). E-mail: gorsib@rambler.ru. SPIN-код: 6662-4616. Author ID (Scopus): 14052058500. ORCID: 0000-0001-5870-7584. Researcher ID (WOS): R-2781-2016.

**Костяно Михаил Владимирович**, ведущий инженер кафедры органической химии Института фундаментальных наук, Кемеровский государственный университет (г. Кемерово, Россия). SPIN-код: 5953-6554. Author ID (Scopus): 6507008191.

**Магарил Юрий Абрамович**, кандидат медицинских наук, заведующий общим курсом онкологии, Кемеровский государственный медицинский университет Минздрава РФ (г. Кемерово, Россия). AuthorID (РИНЦ): 522768.

**Титов Виктор Александрович**, заведующий торакальным отделением, Областной клинический онкологический диспансер (г. Кемерово, Россия).

**Вержбицкая Наталья Евгеньевна**, кандидат медицинских наук, заведующая патолого-анатомическим отделением, Областной клинический онкологический диспансер (г. Кемерово, Россия).

**Вафин Илгиз Ахматович**, главный врач, Кемеровский областной центр крови (г. Кемерово, Россия).

#### Финансирование

Работа выполнена в рамках проекта VI.59.1.1. Программы фундаментальных научных исследований СО РАН.

#### Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

#### ABOUT THE AUTHORS

**Andrey N. Glushkov**, MD, Professor, Director of Institute of Human Ecology of Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry (Kemerovo, Russia). Author ID (Scopus): 7006323832. Researcher ID (WOS): Q-5985-2016.

**Elena G. Polenok**, PhD, Leading Researcher, Immunochemistry Laboratory, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry (Kemerovo, Russia). Author ID (Scopus): 6506567994. Researcher ID (WOS): Q-5381-2016.

**Stella A. Mun**, PhD, Senior Researcher, Immunogenetics Laboratory, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry (Kemerovo, Russia). Author ID (Scopus): 7101645456. ORCID: 0000-0002-5530-3469. Researcher ID (WOS): J-6484-2018.

**Lyudmila A. Gordeeva**, PhD, Leading Researcher, Immunogenetics Laboratory, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry (Kemerovo, Russia). Author ID (Scopus) 14052058500. ORCID: 0000-0001-5870-7584. Researcher ID (WOS): R-2781-2016.

**Mikhail V. Kostyanko**, Leading Engineer, Organic Chemistry Department, Institute of Fundamental Sciences, Kemerovo State University (Kemerovo, Russia). Author ID (Scopus): 6507008191.

**Yuri A. Magarill**, MD, PhD, Head of Oncology Department, Kemerovo State Medical University (Kemerovo, Russia).

**Viktor A. Titov**, MD, Head of Thoracic Department, Regional Clinical Oncology Dispensary (Kemerovo, Russia).

**Natalia E. Verzhbitskaya**, MD, PhD, Head of Pathologic Department, Regional Clinical Oncology Dispensary (Kemerovo, Russia).

**Ilgiz A. Vafin**, MD, Chief Physician of Regional Center of Blood (Kemerovo, Russia).

***Funding***

*The work was carried out under project VI.59.1.1. Programs of basic scientific research of SB RAS.*

***Conflict of interest***

*Authors declare lack of the possible conflicts of interests.*