

Ганцев Ш.Х., Бакиев Р.Р.

ЛОКАЛЬНО-ТКАНЕВЫЙ ИНТЕРЛЕЙКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, 450000, г. Уфа, Россия

Рак молочной железы занимает 1-е место в структуре онкологических заболеваний женщин в России и в мире. В последние годы появились многочисленные сообщения, что рост и прогрессия рака молочной железы, а также других опухолей зависит не только от их злокачественного потенциала, но и от стромальных факторов, присутствующих в опухолевой микросреде, а также от межклеточных взаимодействий. Целью исследования была оценка межклеточных взаимодействий тканей, окружающих опухоль, на основании определения локально-тканевого интерлейкинового профиля. Были определены интерлейкиновые профили подмышечной жировой клетчатки со стороны поражения и подкожной жировой клетчатки передней стенки грудной клетки, расположенной в максимальном удалении от опухоли, больных раком молочной железы IIa–IIIb стадии. В результате чего пришли к выводам, что методика основанная на измерении уровней интерлейкинов: ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-10 и фактора некроза опухоли α в тканях и в крови позволяет в достаточной мере оценить иммунные процессы, происходящие в тканях, окружающих опухоль. Жировая ткань различных областей больных раком молочной железы значительно отличается по уровню интерлейкинов, что указывает на различную вовлеченность жировой ткани в иммунный ответ, а также присутствует зависимость местного иммунного статуса жировой ткани подмышечной области от экспрессии рецепторов к эстрогенам, прогестерону и HER2/neu на поверхности клеток рака молочной железы.

Ключевые слова: рак молочной железы; жировая ткань; интерлейкиновый профиль; местный иммунный статус.

Для цитирования: Ганцев Ш.Х., Бакиев Р.Р. Локально-тканевый интерлейкиновый профиль при раке молочной железы. *Российский онкологический журнал*. 2016; 21 (1–2): 60–65. DOI: 10.18821/1028-9984-2015-21-1-60-65

Для корреспонденции: Ганцев Шамиль Ханафиевич, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент АН Республики Башкортостан, директор Научно-исследовательского института онкологии «Башкирского государственного медицинского университета»; e-mail: prfg@mail.ru.

Gantsev Sh.Kh., Bakiyev R.R.

LOCAL TISSUE INTERLEUKINE PROFILE IN BREAST CANCER

Bashkir State Medical University, Ufa, 450000, Russian Federation

Breast cancer ranks first in the structure of oncological diseases in women in Russia and in the World. In recent years there have been numerous reports that the growth and progression of breast cancer and other tumors depend not only on their malignant potential, but also on stromal factors presented in the tumor microenvironment and intercellular interactions. The aim of our study was to evaluate intercellular interactions of the tissues surrounding the tumor, by means of determination of the locally interleukine profile. We have identified interleukine profiles of the axillary fatty tissue from the lesions and subcutaneous fat of the anterior chest wall, located at a maximum distance from the tumors, in stage IIa–IIIb breast cancer patients. As a result we came to a conclusion: the method based on the measurement of IL-1, IL-2, IL-6, IL-10 and α -TNF levels in the tissues and in the blood allows to evaluate the immune processes occurring in the tissues surrounding the tumor; adipose tissue of various areas of breast cancer patients differs significantly according to the level of interleukines, which indicates that different involvement of adipose tissue in various areas of the immune response; there is a dependence of the local immune status of armpit adipose tissue on the expression of ER, PgR, Her2/neu on the surface of breast cancer cells.

Key words: breast cancer; adipose tissue; interleukines profile; local immune status.

For citation: Gantsev Sh.Kh., Bakiyev R. R. Local tissue interleukine profile in breast cancer. *Rossiiskii onkologicheskii zhurnal. (Russian Journal of Oncology)*. 2016; 21(1–2): 60–65. (In Russ.). DOI: 10.18821/1028-9984-2016-21-1-60-65

For correspondence: Shamil Kh.Gantsev, MD, PhD, DSc, Prof., Corr. Member of Academy of Sciences of the Republic of Bashkortostan, Director of the Research Institute of Oncology of the Bashkir State Medical University, Ufa, 450000, Russian Federation, E-mail: prfg@mail.ru

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The study had no sponsorship.

Received 23 September 2015

Accepted 15 October 2015

Рак молочной железы (РМЖ) – приоритетная проблема здравоохранения во многих странах мира с учетом того, что данная нозология занимает 1-е место в структуре онкологических заболеваний у женщин [1]. В России, несмотря на значительный прогресс в разработке подходов к диагностике и

лечению этого заболевания, распространенность и смертность остаются стабильно высокими и имеют тенденцию к росту [2].

В последние годы появились многочисленные сообщения, что рост и прогрессия РМЖ, а также других опухолей зависят не только от их злокачествен-

ного потенциала, но и от стромальных факторов, присутствующих в опухолевой среде, неразрывно связанной с внеклеточной матрицей, а также от межклеточных взаимодействий [3].

Установлено, что межклеточные взаимодействия играют ключевую роль в регуляции клеточного гомеостаза и проявлений многих клеточных функций [4]. Регуляция этих процессов осуществляется с помощью различных дистантных и локальных механизмов прямой и обратной связи, результатом реализации которых является изменение функциональной активности различных типов клеток [5]. Существенная роль в становлении и стабилизации данных механизмов принадлежит цитокинам [6].

Цитокины – полиморфная регуляторная сеть медиаторов, предназначенных для контроля процессов клеточного гомеостаза кроветворной, иммунной и других систем организма [7,8]. Для ее правильного функционирования необходимо строгое соблюдение баланса как самих цитокинов, так и их рецепторов, содержание которых подвергается существенным изменениям в зависимости от состояния участвующих во взаимодействиях клеток [8].

Цитокины в первую очередь регулируют развитие местных защитных реакций в тканях с участием различных типов клеток крови, соединительной ткани и эпителия [9]. В рамках иммунной системы цитокины осуществляют взаимосвязь между неспецифическими защитными реакциями и специфическим иммунитетом, действуя в обоих направлениях [6].

Цитокины действуют на клетки следующим образом: аутокринно – на клетку, секретирующую цитокин; паракринно – на клетки, расположенные вблизи клетки-продуцента; эндокринно – на клетки других органов и тканей, после попадания цитокина в кровь – гормоноподобное действие [5].

Так как в большинстве своем эффекты цитокинов являются локальными, целесообразно измерять их уровни в соответствующих тканях – биоптатах соответствующих органов или в естественных жидкостях: спинномозговой или синовиальной жидкости, слезной жидкости, моче, вагинальном секрете и др. [10].

В настоящий момент диагностическая значимость оценки уровня цитокинов заключается в констатации самого факта повышения или понижения их концентрации в плазме крови у больного с конкретным заболеванием [8]. При данном подходе возможна лишь оценка системного действия цитокинов, тогда как для оценки местного действия необходимо измерять их уровни в соответствующих тканях. Причем для оценки межклеточного взаимодействия целесообразно определять концентрацию как противо-, так и провоспалительных цитокинов. Определение концентрации одного цитокина (например, ИЛ-6) не даст возможности адекватно оценить состояние всего цитокинового баланса. Поэтому необходима одномоментная оценка уровня нескольких интерлейкинов в исследуемых тканях.

В мировой литературе встречается достаточное количество сообщений о непосредственном участии интерлейкинов: ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-10 и фактора некроза опухоли α (TNF α) в процессах роста и метастазирования опухолей, но все исследования либо проводились *in vitro*, либо измерения концентрации интерлейкинов осуществлялось в плазме крови больных раком людей или животных. Работ, оце-

нивающих концентрацию данных интерлейкинов в тканях, граничащих с опухолью или отдаленных от опухоли, больных РМЖ, мы не встречали.

Целью исследования стала оценка интерлейкинового профиля тканей больных РМЖ, характеризующего стромально-тканевое взаимодействие клеток опухоли с клетками окружающих тканей и определяющего метастатическую активность новообразования.

Материал и методы

В анализ был включен 51 человек в возрасте от 35 лет до 81 года. Из них 46 женщин, проходивших лечение в маммологическом отделении ГБУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер» (Уфа) в период с 2012 по 2014 г. с диагнозом РМЖ. У всех пациенток опухоль локализовалась в наружных квадрантах молочной железы, так как РМЖ данной локализации практически всегда метастазирует в лимфатические узлы подмышечной области ипсилатеральной стороны. Контролем служили образцы тканей, полученных от 5 трупов женщин, скоропостижно скончавшихся от острого нарушения мозгового кровообращения, без сопутствующей онкологической патологии, в возрасте от 62 до 75 лет.

Диагноз был верифицирован у всех больных. Распространенность опухолевого процесса оценивалась по системе TNM.

Критерии включения в исследование:

1. Впервые выявленный РМЖ.
2. Отсутствие предшествовавшего химиотерапевтического или лучевого лечения.
3. Диагноз, подтвержденный морфологическим исследованием.
4. Отсутствие тяжелой сопутствующей патологии.

Критерии исключения:

1. Отсутствие морфологической верификации.
2. Наличие тяжелых сопутствующих заболеваний.
3. Проведенное адъювантное химиотерапевтическое, иммунотерапевтическое или лучевое лечение.

Радикальная мастэктомия по Маддену выполнена 34 больным, радикальная резекция молочной железы с лимфодиссекцией подмышечной области осуществлена 12 больным.

По системе TNM пациенты распределились следующим образом (табл. 1).

По частоте встречаемости различных гистологических форм РМЖ пациентки распределены следующим образом (табл. 2).

Также всем пациенткам было выполнено иммуногистохимическое исследование экспрессии клетками карциномы молочной железы рецепторов к эстрогенам и прогестерону (ER и PR), а также белку эпидермального фактора роста 2-го типа (HER2/neu, ErbB2) опухолевой ткани с применением реактивов

Таблица 1

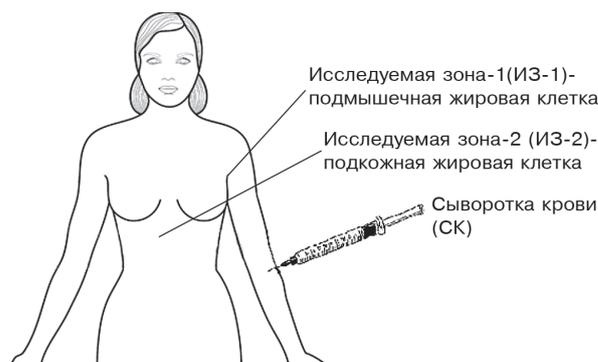
Распределение больных РМЖ по стадиям (классификация по TNM)

Стадия заболевания	Число больных
IIa (T2N0M0)	30
IIb (T2N1M0, T3N0M0)	11
IIIa (T2N2M0, T1N2M0)	5

Таблица 2

Гистологические формы РМЖ в исследуемой группе

Гистологическая форма РМЖ	Число больных
Инфильтрирующая протоковая карцинома	35
– низкой степени злокачественности	7
– умеренной степени злокачественности	15
– высокой степени злокачественности	13
Инфильтрирующая дольковая карцинома	9
– умеренной степени злокачественности	9
Муцинозная аденокарцинома	2
– умеренной степени злокачественности	2



Области для забора материала.

фирмы Dako (Дания) и иммуногистостейнера Ventana Symphony фирмы Ventana Medical Systems (США).

Исследование проходило в 2 этапа. На первом этапе осуществлялся забор материала, а именно жировая ткань подмышечной области со стороны расположения опухоли – исследуемая зона 1 (ИЗ-1), подкожная жировая клетчатка передней стенки грудной клетки на максимальном удалении от опухоли, субмаммарной области – исследуемая зона 2 (ИЗ-2) и кровь пациенток (см. рисунок). В контрольной группе исследования проводились аналогично основной группе. На втором этапе проводилось определение содержания ИЛ-1β, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-10 и TNFα в сыворотке крови (СК), в подкожной жировой клетчатке передней стенки грудной клетки (ИЗ-2) и в жировой клетчатке подмышечной области (ИЗ-1) в обеих группах.

До операции у всех пациенток забиралась периферическая венозная кровь в количестве 10 мл. Далее проводилось центрифугирование в течение 10 мин при 2,5 тыс. оборотах в минуту для выделения плазмы крови. Затем пробирки с плазмой крови помещались в морозильную камеру и хранились при температуре -35°C до момента определения цитокинов. Жировая клетчатка иссекалась во время операции из зон 1 и 2 в объеме 10 мл. Все образцы помещались в морозильную камеру и хранились при температуре -35°C.

В день определения цитокинов в крови и тканях образцы жировой ткани извлекались из морозильной камеры и нагревались до комнатной температуры в течение 2 ч. Далее 10 мл образца ткани перемещали в чистую пробирку объемом 50 мл. С помощью механического гомогенизатора с открытым пестиком собственной конструкции проводилась гомогенизация жировой ткани до однородной массы без добавления каких-либо растворов. Далее полученную массу переливали в чистую пробирку объемом 10 мл и центрифугировали в течение 10 мин при 2,5 тыс. оборотах в минуту. Далее сливали супернатант (жир), а осадок перемещали в пробирку типа Eppendorf объемом 2 мл и центрифугировали при 5 тыс. оборотах в минуту в течение 5 мин при температуре 30°C. На дне пробирки оседала жидкая фракция объемом 100–300 мкл. Данную фракцию с помощью пипетки перемещали в чистую пробирку типа Eppendorf объемом 2 мл и разводили в 30 раз изотоническим раствором NaCl. Для работы использовалось сертифицированное лабораторное оборудование, а именно микроцентрифуга Eppendorf Centrifuge 5417R (Германия), промыватель планшетов PW-40 (Франция), центрифуга и шейкер-инкубатор фирмы

Elmi (Латвия), спектрофотометр 450 нм Multiskanex (Финляндия), автоматический ИФА-анализатор, Lasurite (США). Для работы использовали наборы реагентов фирмы «Вектор-БЕСТ» (Новосибирск) для измерения количественного содержания ИЛ-1β, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-10, TNFα в тканях и в СК человека. Метод определения основан на твердофазном «сэндвич»-варианте иммуноферментного анализа с применением моно- и поликлональных антител к изучаемым цитокинам. Анализ проводили согласно инструкции по применению изготовителя. Далее полученные цифры концентрации тканевых цитокинов умножались на 30, так как до проведения иммуноферментного анализа образцы разбавлялись в 30 раз.

Статистическую обработку результатов клинических, лабораторных исследований проводили с применением пакета прикладных программ Statistica for Windows 8.0 (StatSoft), программного обеспечения MS Excel 2007 (Microsoft). Для обработки результатов исследования применялись методы непараметрической статистики (ранговый критерий Манна–Уитни).

Применение критерия Манна–Уитни при обработке результатов было обусловлено тем, что данный критерий особенно эффективен при сравнительно малых объемах выборок (до 60). При этом учитывались ограничения применения критерия – объем каждой выборки должен быть больше трех, или при одной выборке в два показателя $n_1 = 2$ вторая выборка должна была состоять как минимум из 5 показателей, т. е. $n_2 > 4$.

Схема вычислений. Значения характеристики двух выборок объединялись в общий вариационный ряд с отметкой принадлежности каждого члена ряда к соответствующей выборке и производилось ранжирование членов ряда (меньшие значения получали меньшие ранги). Одинаковым значениям общего вариационного ряда присваивались одинаковые ранги, равные среднему арифметическому.

Затем подсчитывались суммы рангов R_1 и R_2 каждой выборки. В качестве проверки правильности вычислений использовалось соотношение:

$$R_1 + R_2 = \frac{1}{2} (n_1 + n_2) (n_1 + n_2 + 1).$$

Далее подсчитывались инверсии:

$$U_1 = n_1 n_2 + \frac{1}{2} n_2 (n_2 + 1) - R_2;$$

$$U_2 = n_1 n_2 + \frac{1}{2} n_1 (n_1 + 1) - R_1$$

с контролем по формуле: $U_1 + U_2 = n_1 n_2$.

Статистикой критерия Манна–Уитни являлась случайная величина

$$U - \text{наименьшая из двух инверсий: } U = \min (U_1, U_2).$$

Проверка нулевой гипотезы об однородности совокупностей осуществлялась в зависимости от объемов исследуемых выборок. В нашем случае $n_1 + n_2 \geq 20$ проверка нулевой гипотезы сводится к вычислению нормированной случайной величины z :

$$z = |U - 1/2n_1n_2| - 1/2 / \sqrt{1/12 n_1n_2(n_1 + n_2 + 1)}.$$

Эмпирическое значение z сравнивается с квантилями нормального распределения $z_{1-\alpha/2}$ ($z_{0,975} = 1,960$ и $z_{0,995} = 2,576$). При попадании эмпирического значения z в область допустимых значений ($z \leq z_{0,975} = 1,960$) нулевая гипотеза $F_1(x) = F_2(x)$ не отвергается; при попадании в критическую область ($z > z_{0,995975} = 2,576$) верной считается альтернативная гипотеза о принадлежности выборок различным генеральным совокупностям [12].

Результаты

1. Сравнительный анализ цитокинового профиля ИЗ-1, ИЗ-2 и СК больных исследуемой группы

Сравнительный анализ уровней тканевых интерлейкинов различных областей у больных РМЖ Па–Ша стадии (СК, жировой ткани подмышечной области – ИЗ-1 и подкожной жировой ткани передней стенки грудной клетки – ИЗ-2) экспериментальной группы показал, что нет статистически значимых ($p < 0,05$) различий в уровне ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-10 между ИЗ-1 и ИЗ-2, но имеется статистически значимое ($p < 0,05$) различие в уровне ИЛ-6 и TNF α . При этом уровень ИЛ-6 в ИЗ-1 значительно ниже (Me (25%; 75%) = 764,220 (4 81,920; 1134,480) пкг/мл) уровня ИЛ-6 в ИЗ-2 (Me (25%; 75%) = 4044,540 (2639,400; 6144,240) пкг/мл). Аналогично уровень TNF α в ИЗ-1 (Me (25%; 75%) = 1,02 (0; 24,18) пкг/мл) значительно ниже уровня TNF α в ИЗ-2 (Me (25%; 75%) = 109,86 (73,68; 172,74) пкг/мл).

Установлено, что имеется статистически значимое различие ($p < 0,05$) уровней ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-10 и TNF α в ИЗ-1 и в СК больных РМЖ Па–Ша стадии, при этом уровень интерлейкинов в ИЗ-1 значительно превосходит уровень данных интерлейкинов в СК пациентов. Аналогично имеется статистически значимое различие ($p < 0,05$) уровней ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-10 и TNF α в ИЗ-2 и в СК больных РМЖ Па–Ша стадии, при этом уровень данных интерлейкинов в ИЗ-2 значительно превосходит их уровень в СК пациентов; тогда как уровни ИЛ-1 в ИЗ-1, в ИЗ-2 и в СК больных РМЖ Па–Ша стадии одинаковы.

2. Сравнительный анализ цитокинового профиля ИЗ-1, ИЗ-2 и СК исследуемой и контрольной групп

Сравнительный анализ уровней тканевых интерлейкинов ИЗ-1 основной группы и ИЗ-1 контрольной группы показал, что имеется статистически значимое различие ($p < 0,05$) уровней ИЛ-1, ИЛ-2 и TNF α в ИЗ-1 больных РМЖ Па–Ша стадии и контрольной группы. При этом уровень данных интерлейкинов в ИЗ-1 больных РМЖ Па–Ша стадии значительно меньше их уровня в ИЗ-1 контрольной группы, тогда как отсутствует статистически значимое различие ($p < 0,05$) уровней ИЛ-6 и ИЛ-10 в ИЗ-1 больных РМЖ Па–Ша стадии и в ИЗ-1 контрольной группы.

Установлено, что имеется статистически значимое различие ($p < 0,05$) уровня ИЛ-6 в ИЗ-2 больных РМЖ Па–Ша стадии и в ИЗ-2 контрольной группы. При этом уровень интерлейкинов в ИЗ-2 больных

РМЖ Па–Ша стадии значительно больше уровня интерлейкинов в ИЗ-2 контрольной группы. Однако отсутствует статистически значимое различие ($p < 0,05$) уровней ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-10 и TNF α в ИЗ-2 больных РМЖ Па–Ша стадии и в ИЗ-2 контрольной группы.

Также установлено, что имеется статистически значимое различие ($p < 0,05$) уровней ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6 и TNF α в СК больных РМЖ Па–Ша стадии и в СК контрольной группы. При этом уровень данных интерлейкинов в СК больных РМЖ Па–Ша стадии значительно меньше уровня в СК контрольной группы, тогда как отсутствует статистически значимое различие ($p < 0,05$) уровня ИЛ-10 в СК больных РМЖ Па–Ша стадии и в СК контрольной группы.

3. Сравнительный анализ интерлейкинового профиля больных РМЖ различных стадий

Сравнительный анализ уровней тканевых интерлейкинов ИЗ-1 показал, что отсутствует статистически значимое различие ($p < 0,05$) уровней ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-10 и TNF α в ИЗ-1 больных РМЖ Па, Пб и Ша стадии, но имеется статистически значимое различие уровней ИЛ-1, ИЛ-2 и TNF α в ИЗ-1 больных РМЖ Па стадии и в ИЗ-1 контрольной группы. Аналогичные различия наблюдаются в ИЗ-1 больных РМЖ Пб стадии и в ИЗ-1 контрольной группы. При этом уровень данных интерлейкинов в ИЗ-1 больных РМЖ Па и Пб стадии значительно меньше их уровня в ИЗ-1 контрольной группы, тогда как отсутствует статистически значимое различие ($p < 0,05$) уровней ИЛ-6 и ИЛ-10 в ИЗ-1 больных РМЖ Па, Пб, Ша стадии, контрольной группы.

Также при анализе выяснили, что отсутствует статистически значимое различие ($p < 0,05$) уровней ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-10 и TNF α в ИЗ-2 больных РМЖ Па, Пб и Ша стадии, но имеется статистически значимое различие уровня ИЛ-6 в ИЗ-2 больных РМЖ Па стадии и в ИЗ-2 контрольной группы. Аналогичные различия наблюдаются в ИЗ-2 больных РМЖ Пб стадии и в ИЗ-2 контрольной группы. При этом уровень ИЛ-6 в ИЗ-2 больных РМЖ Па стадии и в ИЗ-2 больных РМЖ Пб стадии значительно больше уровня данного интерлейкина в ИЗ-2 контрольной группы, тогда как отсутствует статистически значимое различие ($p < 0,05$) уровней ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-10 и TNF α в ИЗ-2 больных РМЖ Па, Пб, Ша стадии, контрольной группы.

Аналогичным образом установлено, что отсутствует статистически значимое различие ($p < 0,05$) уровней ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-10 и TNF α в СК больных РМЖ Па, Пб и Ша стадии, но имеется статистически значимое различие уровней интерлейкинов в СК больных РМЖ Па стадии и в СК контрольной группы, а также в СК больных РМЖ Пб стадии и в СК контрольной группы, за исключением ИЛ-10, уровень которого в СК больных РМЖ Пб стадии не отличается от уровня в СК контрольной группы. При этом уровни вышеперечисленных интерлейкинов в СК больных РМЖ Па и Пб стадии значительно меньше уровня данных интерлейкинов в СК контрольной группы.

4. Сравнительный анализ интерлейкинового профиля исследуемой группы в зависимости от экспрессии рецепторов к эстрогенам опухолевыми клетками

Сравнительный анализ уровней тканевых интерлейкинов исследуемой группы в зависимости от экспрессии рецепторов к эстрогенам (ER) опухоле-

выми клетками и контрольной группы показал, что отсутствует статистически значимое различие ($p < 0,05$) уровней ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-10 и TNF α в ИЗ-1 больных РМЖ Па–Ша стадии в зависимости от уровня экспрессии ER опухолевыми клетками, т. е. отсутствуют статистически значимые различия ($p < 0,05$) уровней ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-10 и TNF α в ИЗ-1 больных РМЖ ER (0), ER (+), ER (++), ER (+++). Но присутствует статистически значимое различие ($p < 0,05$) уровня ИЛ-10 в ИЗ-2 больных РМЖ Па–Ша стадии в зависимости от уровня экспрессии ER опухолевыми клетками, т. е. присутствует статистически значимое различие ($p < 0,05$) уровня ИЛ-10 между группой ER (0) и группой ER (+++), при этом уровень ИЛ-10 в ИЗ-2 группы больных РМЖ ER (+++) значительно меньше, чем в ИЗ-2 группы больных РМЖ ER (0). Статистически значимых различий ($p < 0,05$) уровней ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6 и TNF α в зависимости от уровня экспрессии ER опухолевыми клетками не определяется. Также выявлено, что присутствует статистически значимое различие ($p < 0,05$) уровня ИЛ-6 в СК больных РМЖ Па–Ша стадии в зависимости от уровня экспрессии ER опухолевыми клетками, т. е. присутствует статистически значимое различие ($p < 0,05$) уровня ИЛ-6 между группой ER (0) и группой ER (++), при этом уровень ИЛ-6 в СК группы больных РМЖ ER (++) значительно больше, чем в СК группы больных РМЖ ER (0). Статистически значимых различий ($p < 0,05$) уровней ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-10 и TNF α в зависимости от уровня экспрессии ER опухолевыми клетками, не определяется.

5. Сравнительный анализ интерлейкинового профиля исследуемой группы в зависимости от экспрессии рецепторов к прогестерону опухолевыми клетками

Сравнительный анализ уровней тканевых интерлейкинов экспериментальной группы в зависимости от экспрессии рецепторов к прогестерону (PgR) опухолевыми клетками и контрольной группе показал, что присутствует статистически значимое различие ($p < 0,05$) уровня ИЛ-10 в ИЗ-1 больных РМЖ Па–Ша стадии в зависимости от уровня экспрессии PgR опухолевыми клетками, т. е. присутствует статистически значимое различие ($p < 0,05$) уровня ИЛ-10 в ИЗ-1 между группой больных РМЖ PgR (0) и группой больных РМЖ PgR (+), при этом уровень ИЛ-10 в ИЗ-1 группы больных РМЖ PgR (+) значительно меньше, чем в аналогичной области группы больных РМЖ PgR (0). Статистически значимых различий ($p < 0,05$) уровней ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6 и TNF α в ИЗ-1 в зависимости от уровня экспрессии PgR опухолевыми клетками не определяется. Также установлено, что отсутствует статистически значимое различие ($p < 0,05$) уровней ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-10 и TNF α в ИЗ-2 больных РМЖ Па–Ша стадии в зависимости от уровня экспрессии PgR опухолевыми клетками, т. е. отсутствуют статистически значимые различия ($p < 0,05$) уровней ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-10 и TNF α в ИЗ-2 между группами больных РМЖ PgR (0) и РМЖ PgR (+). Аналогично отсутствует статистически значимое различие ($p < 0,05$) уровней ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-10 и TNF α в СК больных РМЖ Па–Ша стадии в зависимости от уровня экспрессии PgR опухолевыми клетками, т. е. отсутствуют статистически значимые различия ($p < 0,05$) уровней ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-10 и TNF α в СК между группами больных

РМЖ PgR (0) и РМЖPgR (+). При этом повышение или снижение уровня тканевых интерлейкинов не сказывается на уровне данных интерлейкинов в СК.

6. Сравнительный анализ интерлейкинового профиля исследуемой группы в зависимости от экспрессии рецепторов к белку HER-2/neu опухолевыми клетками

Сравнительный анализ уровней тканевых интерлейкинов основной группы в зависимости от экспрессии рецепторов к белку HER-2/neu опухолевыми клетками и контрольной группы показал, что отсутствует статистически значимое различие ($p < 0,05$) уровней ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-10 и TNF α в ИЗ-1 и в ИЗ-2 больных РМЖ Па–Ша стадии в зависимости от уровня экспрессии рецепторов к белку HER-2/neu опухолевыми клетками, т. е. отсутствуют статистически значимые различия ($p < 0,05$) уровней ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-6, ИЛ-10 и TNF α в ИЗ-1 и в ИЗ-2 между группой больных РМЖ HER-2/neu (0), группой больных РМЖ HER-2/neu (+), группой больных РМЖ HER-2/neu (++). Но имеется статистически значимое различие ($p < 0,05$) уровня ИЛ-6 в СК больных РМЖ Па–Ша стадии в зависимости от уровня экспрессии рецепторов к белку HER-2/neu опухолевыми клетками, т. е. присутствует статистически значимое различие ($p < 0,05$) уровня ИЛ-6 в СК между группой больных РМЖ HER-2/neu (+) и группой больных РМЖ HER-2/neu (++), при этом уровень ИЛ-6 в СК группы больных РМЖ HER-2/neu (++) значительно меньше, чем в СК группы больных РМЖ HER-2/neu (+), тогда как отсутствует статистически значимое различие ($p < 0,05$) уровня ИЛ-6 в СК между группами больных РМЖ HER-2/neu (+) и РМЖ HER-2/neu (0). Также отсутствует статистически значимое различие ($p < 0,05$) уровней ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-10 и TNF α в СК между группами больных РМЖ HER-2/neu (0), РМЖ HER-2/neu (+), РМЖ HER-2/neu (++)).

Обсуждение

Сравнительный анализ локально-тканевого интерлейкинового профиля ИЗ-1, ИЗ-2 и СК обследуемой группы позволяет предположить, что жировая ткань различных областей (ИЗ-1 и ИЗ-2) больных РМЖ значительно различается по уровню интерлейкинов, что указывает на различную вовлеченность жировой ткани различных областей в иммунный ответ. Уровни провоспалительных цитокинов ИЛ-2, ИЛ-6, TNF α и противовоспалительного цитокина ИЛ-10 больных РМЖ Па–Ша стадии значительно превышают уровни перечисленных цитокинов в сыворотке крови. И только уровни ИЛ-1 не изменяются в зависимости от ткани (жировая ткань или кровь) и области, причем изменение интерлейкинового профиля крови не отражает изменения локально-тканевого интерлейкинового профиля жировой ткани.

При анализе локально-тканевого интерлейкинового профиля больных РМЖ различных стадий выявлено отсутствие зависимости интерлейкинового профиля тканей, граничащих с опухолью, от стадии заболевания РМЖ, что отражает общую реакцию иммунной системы на биологические особенности опухоли, а не на ее размер.

Не менее интересные результаты получены при сравнительном анализе локально-тканевого интерлейкинового профиля исследуемой группы в зависимости от экспрессии ER, PgR, рецепторов к белку HER-2/

неу опухолевыми клетками. Обнаружена зависимость между местным иммунным статусом и наличием ER и их количеством на поверхности опухолевых клеток РМЖ. И эта зависимость в первую очередь выражена в подкожной жировой клетчатке (ИЗ-2), а не в подмышечной жировой ткани (ИЗ-1), куда метастазирует РМЖ. При этом повышение или снижение уровня тканевых интерлейкинов не сказывается на уровне данных интерлейкинов в СК. Также обнаружена зависимость между местным иммунным статусом и наличием PgR и их количеством на поверхности опухолевых клеток РМЖ. И эта зависимость в первую очередь выражена в подмышечной жировой ткани (ИЗ-1), куда метастазирует РМЖ. При этом повышение или снижение уровня тканевых интерлейкинов не сказывается на уровне данных интерлейкинов в СК. Аналогично обнаружена обратная зависимость между местным иммунным статусом и наличием HER-2/neu и его количеством на поверхности опухолевых клеток РМЖ. И эта зависимость в первую очередь выражена в СК, тогда как уровень интерлейкинов в жировой ткани не изменяется в зависимости от наличия HER-2/neu на поверхности опухолевых клеток РМЖ. Это может косвенно указывать на отдаленное воздействие клеток РМЖ, экспрессирующих HER-2/neu на своей поверхности, на иммунные механизмы организма.

Заключение

Предложенная методика оценки межклеточного взаимодействия позволяет в должной мере оценить иммунные реакции, происходящие в тканях, окружающих опухоль. При этом оценка, проводимая по предложенной методике, выявляет значительные изменения интерлейкинового профиля не только крови больных РМЖ, но и жировой ткани различной локализации, причем изменение интерлейкинового профиля крови не отражает изменения локально-тканевого интерлейкинового профиля жировой ткани больных РМЖ. Также значительно различаются между собой интерлейкиновые профили белой жировой ткани различной локализации больных РМЖ. Данная методика выявляет отсутствие зависимости местного иммунного статуса от стадии заболевания РМЖ, что отражает общую реакцию иммунной системы на биологические особенности опухоли, а не на ее размер. Существует зависимость между иммунными реакциями, происходящими в тканях, окружающих опухоль, и наличием рецепторов к эстрогену, прогестерону и к HER-2/neu-белку и их количеством на поверхности опухолевых клеток РМЖ. При этом в одном случае эта зависимость отражает системные иммунные реакции организма на рост опухоли, в другом – местные, препятствующие распространению опухоли.

Изучение процессов, происходящих в тканях вокруг опухоли, наряду с процессами, происходящими в самой опухоли, позволит понять феномен «ухода опухоли» от иммунной системы организма, а следовательно, найти новые методы лечебного воздействия, что несомненно облегчит состояние больных РМЖ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Семиглазов В.Ф., Манихас А.Г., Божок А.А. и др. Неoadъювант-

- ная терапия рака молочной железы с повышенной экспрессией HER2. *Фарматека*. 2010; 14 (208): 12–7.
2. Рязенов В.В., Горохова С.Г. Прогнозирование заболеваемости раком молочной железы с выделением популяции пациентов с гиперэкспрессией HER2 в Сибирском федеральном округе. *Современная онкология*. 2012; 2: 19–23.
 3. Kushiro K., Chu R., Verma A., Necez N. Adipocytes promote B16BL6 melanoma cell invasion and the epithelial-to-mesenchymal transition [Электронный ресурс]. *Cancer Microenviron*. 2012; 5: 73–82. <http://dx.doi.org/10.1007/s12307-011-0087-2>
 4. Иванов А.А., Гладких О.П., Кузнецова А.В., Данилова Т.И. Межклеточные и клеточно-матриксные взаимодействия в патологии. *Молекулярная медицина*. 2005; 2: 16–21.
 5. Ярилин А.А. Контактные межклеточные взаимодействия при иммунном ответе. *Иммунология*. 1999; 1: 17–24.
 6. Симбирцев А.С. Цитокины – новая система регуляции защитных реакций организма. *Цитокины и воспаление*. 2002; 1 (1): 9–16.
 7. Сенников С.В., Силков А.Н., Козлов В.А. *Альтернативный сплайсинг в формировании полиморфной структуры системы цитокинов*. Новосибирск: Наука; 2004.
 8. Воробьева Е.В., Васильева Э.М., Галикеева Г.Ф., Горбунова В.Ю. Молекулярно-генетические исследования функционирования полиморфных вариантов генов цитокиновой сети и биотрансформации ксенобиотиков при онкопатологии. *Креативная хирургия и онкология*. 2013; 4: 28–35.
 9. Gantsev S.K., Gorbunova V.Y., Galikeeva G.F., Vorobyeva E.V., Vasilyeva E.M., Rustamhanov R.A. Molecular genetic study of the allelic state of the cell cycle genes (TP53, BRCA1) and features of the regulation of the cytokine cascade in breast cancer. *J. Cancer Res. Updates*. 2013; 2: 211–9.
 10. Демьянов А.В., Котов А.Ю., Симбирцев А.С. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике. *Цитокины и воспаление*. 2003; 2 (3): 20–35.
 11. Харченко М.А. *Теория статистического вывода: Учебное пособие для вузов*. Воронеж: Издательско-полиграфический центр Воронежского государственного университета; 2008.

REFERENCES

1. Semiglazov V.F., Manikhas A.G., Bozhok A.A. et al. Neoadjuvant therapy of breast cancer with HER-2 overexpression. *Farmateka*. 2010; 14 (208): 12–7. (in Russian)
2. Ryazhenov V.V., Gorokhova S.G. Forecasting the incidence of breast cancer with the release of a population of patients with overexpression of HER2 in the Siberian Federal district. *Sovremennaya onkologiya*. 2012; 2: 19–23. (in Russian)
3. Kushiro K., Chu R., Verma A., Necez N. Adipocytes promote B16BL6 melanoma cell invasion and the epithelial-to-mesenchymal transition [Электронный ресурс]. *Cancer Microenviron*. 2012; 5: 73–82. <http://dx.doi.org/10.1007/s12307-011-0087-2>
4. Ivanov A.A., Gladkikh O.P., Kuznetsova A.V., Danilova T.I. Intercellular and cell-matrix interaction in pathology. *Moekulyarnaya meditsina*. 2005; 2: 16–21. (in Russian)
5. Yarilin A.A. Contact intercellular interaction in the immune response. *Immunologiya*. 1999; 1: 17–24. (in Russian)
6. Simbirtsev A.S. Cytokines – a new system of regulation of protective reactions of the organism. *Tsitokiny i vospalenie*. 2002; 1 (1): 9–16. (in Russian)
7. Sennikov S.V., Silkov A.N., Kozlov V.A. *Alternative Splicing in the Formation of Polymorphic Structure of the System of Cytokines*. Novosibirsk: Nauka; 2004. (in Russian)
8. Vorob'eva E.V., Vasil'eva E.M., Galikeeva G.F., Gorbunova V.Yu. Molecular genetic studies of the functioning of polymorphic variants of genes of the cytokine network and biotransformation of xenobiotics in cancer pathology. *Kreativnaya khirurgiya i onkologiya*. 2013; 4: 28–35. (in Russian)
9. Gantsev S.K., Gorbunova V.Y., Galikeeva G.F., Vorobyeva E.V., Vasilyeva E.M., Rustamhanov R.A. Molecular Genetic Study of the Allelic State of the Cell Cycle Genes (TP53, BRCA1) and Features of the Regulation of the Cytokine Cascade in Breast Cancer. *J. Cancer Res. Updates*. 2013; 2: 211–9.
10. Dem'yanov A.V., Kotov A. Yu., Simbirtsev A.S. The diagnostic value of studies of the levels of cytokines in clinical practice. *Tsitokiny i vospalenie*. 2003; 2 (3): 20–35. (in Russian)
11. Kharchenko M.A. *The Theory of Statistical Inference: Textbook for High Schools*. Voronezh: Publishing-polygraphic Centre of Voronezh state University; 2008. (in Russian)

Поступила 23.09.15
Принята к печати 15.10.15