

<https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-1-53-63>

# АССОЦИАЦИИ АНТИТЕЛ, СПЕЦИФИЧНЫХ К БЕНЗО[А]ПИРЕНУ, ЭСТРАДИОЛУ И ПРОГЕСТЕРОНУ, С ЭСТРОГЕНОВЫМИ РЕЦЕПТОРАМИ В ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

ПОЛЕНКО Е.Г.<sup>1</sup>, МУН С.А.<sup>1\*</sup>, ГОРДЕЕВА Л.А.<sup>1</sup>, КОСТЯНКО М.В.<sup>2</sup>, АНТОНОВ А.В.<sup>3</sup>, ВЕРЖБИЦКАЯ Н.Е.<sup>3</sup>, КОЛПИНСКИЙ Г.И.<sup>4,5</sup>, ГЛУШКОВ А.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт экологии человека Федерального исследовательского центра угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук, г. Кемерово, Россия

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

<sup>3</sup>ГБУЗ «Кузбасский клинический онкологический диспансер», г. Кемерово, Россия

<sup>4</sup>ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Кемерово, Россия

<sup>5</sup>ГАУЗ «Клинический консультативно-диагностический центр», г. Кемерово, Россия

## Резюме

**Цель.** Выявить предполагаемые ассоциации антител класса А, специфичных к бензо[а]пирену, эстрадиолу и прогестерону (IgA-Вр, IgA-Es, IgA-Pg), с конверсией эстроген-рецептор положительных (ER+) опухолей в эстроген-рецептор отрицательные (ER-) при прогрессии рака молочной железы.

**Материалы и методы.** Исследовали IgA-Вр, IgA-Es и IgA-Pg в сыворотке крови 338 здоровых и 1407 больных раком молочной железы (I стадии – 564; II стадии – 595; III + IV стадий – 248) с помощью полуколичественного иммуноферментного анализа. Конъюгаты Вр, Es и Pg с бычьим сывороточным альбумином использовали в качестве адсорбированных антигенов и анти-IgA человека, меченые пероксидазой хрена – для проявления связавшихся специфических антител. Рассчитывали индивидуальные соотношения уровней исследуемых антител: IgA-Вр/IgA-Pg и IgA-Es/IgA-Pg. Наличие эстрогеновых рецепторов в ткани опухоли исследовали с помощью стандартного иммуно-гистохимического метода.

**Результаты.** Низкие значения IgA-Вр/IgA-Pg ≤ 1 в комбинации с низкими значениями IgA-Es/IgA-Pg ≤ 1 (протективный иммунологиче-

ский фенотип) у здоровых женщин обнаруживали чаще, чем у больных раком молочной железы I стадии с ER+ и ER- опухолями (43,8% против 12,9% и 23,9%,  $p < 0,0001$  и  $p < 0,001$  соответственно). Высокие значения IgA-Вр/IgA-Pg > 1 в комбинации IgA-Es/IgA-Pg > 1 (проканцерогенный иммунологический фенотип) у здоровых женщин встречались реже, чем у больных раком молочной железы (27,5% против 65,5% и 58,7%,  $p < 0,0001$ ). Различия между больными раком молочной железы I стадии с ER+ и ER- опухолями по иммунологическим фенотипам оказались статистически достоверными ( $p = 0,017$ ). Количество больных с ER+ опухолями на I стадии рака молочной железы (83,7%) было больше, а с ER- опухолями (16,3%) меньше, чем на II–IV стадиях (74,4% и 25,6%,  $p < 0,0001$ ). Конверсия ER+ опухолей в ER- при прогрессии заболевания оказалась характерна для пациентов с проканцерогенным иммунологическим фенотипом ( $p < 0,0001$ ), но не с протективным иммунологическим фенотипом ( $p > 0,05$ ).

**Заключение.** Иммуноанализ антител против Вр, Es и Pg может быть использован для повышения эффективности селективных модуляторов эстрогеновых рецепторов в профилактике и лечении рака молочной железы.

## Для цитирования:

Поленок Е.Г., Мун С.А., Гордеева Л.А., Костянко М.В., Антонов А.В., Вержбицкая Н.Е., Колпинский Г.И., Глушков А.Н. Ассоциации антител, специфичных к бензо[а]пирену, эстрадиолу и прогестерону, с эстрогеновыми рецепторами в опухолевой ткани при раке молочной железы. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2022;7(1): 53-63. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-1-53-63>

## \*Корреспонденцию адресовать:

Мун Стелла Андреевна, 650065, Россия, г. Кемерово, пр. Ленинградский, д. 10, E-mail: stellamun@yandex.ru  
© Поленок Е.Г. и др.

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

**Конфликт интересов**

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, свя-

занных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования**

Министерство науки и образования Российской Федерации по государственному заданию № 0286-2022-0008.

ORIGINAL RESEARCH

## ASSOCIATIONS OF ANTIBODIES TO BENZO[A]PYRENE, ESTRADIOL AND PROGESTERONE WITH ESTROGEN RECEPTOR PHENOTYPE IN BREAST CANCER TISSUE

ELENA G. POLENOK<sup>1</sup>, STELLA A. MUN<sup>1</sup>\*, LYUDMILA A. GORDEEVA<sup>1</sup>, MIKHAIL V. KOSTYANKO<sup>2</sup>, ALEXANDER V. ANTONOV<sup>3</sup>, NATALIA E. VERZHBITSKAYA<sup>3</sup>, GLEB I. KOLPINSKIY<sup>4,5</sup>, ANDREY N. GLUSHKOV<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry within the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Kemerovo, Russian Federation

<sup>2</sup>Kemerovo State University, Kemerovo, Russian Federation

<sup>3</sup>Kuzbass Clinical Oncological Dispensary, Kemerovo, Russian Federation

<sup>4</sup>Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russian Federation

<sup>5</sup>Clinical Diagnostic Center, Kemerovo, Russian Federation

English ►

### Abstract

**Aim.** To reveal the associations of IgA antibodies to benzo[a]pyrene, estradiol and progesterone (IgA-Bp, IgA-Es, IgA-Pg) with the conversion of estrogen-receptor positive (ER+) into estrogen-receptor negative (ER-) tumors during breast cancer progression.

**Materials and Methods.** Having collected serum samples from 338 healthy volunteers and 1407 breast cancer patients, we have profiled them for IgA-Bp, IgA-Es, IgA-Pg by means of enzyme-linked immunosorbent assay. Conjugates of bovine serum albumin with Bp, Es and Pg were used as adsorbed antigens and anti-human IgA horseradish peroxidase-conjugated antibodies were used for the detection of specific antigen-bound antibodies. Individual IgA-Bp/IgA-Pg and IgA-Es/IgA-Pg ratios were calculated. Estrogen receptor phenotype was determined using immunohistochemistry.

**Results.** Low IgA-Bp/IgA-Pg ratios ( $\leq 1$ ) in combination with low IgA-Es/IgA-Pg ratios ( $\leq 1$ ) indicative of protective immunophenotype were more frequently revealed in healthy women (43.8%) in comparison with stage 1 breast cancer patients with ER+ (12.9%) and ER- (23.9%) tumors. High IgA-Bp/IgA-Pg ratios ( $>1$ ) with high IgA-Es/IgA-Pg ratios ( $>1$ ) suggestive of pro-carcinogenic immunological phenotype were less often detected in healthy women (27.5%) as compared with stage 1 breast cancer patients with ER+ (65.5%) and ER- (58.7%) tumors. Prevalence of protective and pro-carcinogenic phenotypes significantly differed in stage 1 breast cancer patients with ER+ and ER- tumor phenotypes ( $p = 0.017$ ). ER- tumor phenotype was more prevalent at II-IV tumor stages (25.6%) than at the stage 1 (16.3%). Conversion of ER+ to ER- tumors reflecting the breast cancer progression was characteristic for the patients with pro-carcinogenic immunological phenotype ( $p < 0.0001$ ).

**For citation:**

Elena G. Polenok, Stella A. Mun, Lyudmila A. Gordeeva, Mikhail V. Kostyanko, Alexander V. Antonov, Natalia E. Verzhbitskaya, Gleb I. Kolpinskiy, Andrey N. Glushkov. Associations of antibodies specific to benzo[a]pyrene, estradiol and progesterone with estrogen receptor phenotype in breast cancer tissue. *Fundamental and Clinical Medicine*. 2022;7(1): 53-63. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2022-7-1-53-63>

**\*\*Corresponding author:**

Dr. Stella A. Mun, 10, Leningradsky Prospekt, Kemerovo, 650065, Russian Federation, E-mail: stellamun@yandex.ru

© Elena G. Polenok, et al.

**Conclusion.** Detection of antibodies against Bp, Es and Pg may be applied as a risk marker of breast cancer development and progression.

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

#### Conflict of Interest

None declared.

#### Funding

Ministry of Science and Education of the Russian Federation, state task No. 0286-2022-0008.

## Введение

Рак молочной железы (РМЖ) остаётся самым распространённым онкологическим заболеванием у женщин в России и в мире [1, 2]. Для лечения и профилактики РМЖ применяются селективные модуляторы эстрогеновых рецепторов (ER) – тамоксифен, лазофоксифен, ралоксифен и другие [3, 4, 5], эффективность которых зависит от наличия в опухоли ER. Известно, что уже на I стадии РМЖ в опухоли могут отсутствовать ER и количество ER- опухолей возрастает при последующих стадиях [6]. Конверсия ER+ первичных опухолей в ER- метастазы рассматривается как одно из проявлений опухолевой прогрессии [7]. Механизмы «утраты» ER нормальными и опухолевыми клетками не известны. Отсутствуют прогностические маркеры превращения ER+ опухолей в ER-.

Ранее были обнаружены ассоциации антител класса A, специфичных к бензо[а]пирену (IgA-Bp), эстрадиолу (IgA-Es) и прогестерону (IgA-Pg), с РМЖ у женщин в постменопаузе [8]. Показано, что одновременное превышение уровней IgA-Bp и IgA-Es над уровнем IgA-Pg взаимосвязано с нарушением физиологического баланса между содержанием в сыворотке Es и Pg, характерного для РМЖ [9]. В предыдущем исследовании обнаружили разницу между больными РМЖ с ER- и ER+ опухолями по сравнению со здоровыми женщинами при определённых сочетаниях индивидуальных уровней IgA-Bp, IgA-Es и IgA-Pg [10]. Однако при этом не учитывались стадии заболевания, что не позволило выполнить анализ участия указанных антител в конверсии ER+ опухолей в ER-.

## Цель исследования

Выявить предполагаемые ассоциации антител класса A, специфичных к Bp, Es и Pg, с конверсией ER+ опухолей в ER- при прогрессии РМЖ.

## Материалы и методы

Нами были обследованы 1745 некурящих женщин в постменопаузе. В исследуемую груп-

пу были включены 1407 женщин с первично установленным диагнозом «инвазивная карцинома молочной железы». Все женщины поступили на лечение в ГБУЗ «Кузбасский клинический онкологический диспансер». Согласно TNM классификации были выявлены I и II стадии заболевания в 40% и 42% случаев соответственно, III и IV стадии были выявлены в 17% и 1% случаев. Информация о рецепторном статусе опухоли, наличие/отсутствие эстрогеновых (ER+/-) рецепторов, была получена из протоколов патологоанатомического отделения. Медиана возраста женщин в исследуемой группе составила 63 года (интерквартильный размах 58–69).

В группу сравнения были включены 338 условно здоровых женщин без патологии молочной железы. У здоровых женщин медиана возраста составила 57 лет (интерквартильный размах 53–61).

У всех обследованных женщин периферическую кровь забирали в соответствии с этическими принципами Хельсинской декларации 1975 г. и согласно «Правилами клинической практики в Российской Федерации» (Приказ Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003 г.). Также все женщины дали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Иммуноанализ IgA-Bp, IgA-Es и IgA-Pg проводили с помощью неконкурентного иммуноферментного анализа по описанной в работе [11] методике. Конъюгаты Bp, Es и Pg с бычьим сывороточным альбумином (BSA) использовали в качестве антигенов, которыми были sensibilizированы иммунологические планшеты. Для выявления специфических антител, связавшихся с иммобилизованными антигенами, использовали меченные пероксидазой хрена козы антитела против IgA человека (Novex, США) в разведении 1:10000. Ферментативную реакцию в лунках определяли на фотометре Multiscan FC (Thermo Scientific, Финляндия) при длине волны 450 нм. Уровни антител к гаптенам рассчитывали по формуле (в у.е.):

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

где X = Bp, Es, Pg; OD<sub>X-BSA</sub> – связывание антигел с конъюгатом гаптен-BSA, OD<sub>BSA</sub> – фоновое связывание с белком-носителем BSA.

Все полученные данные были обработаны с помощью программы Statistica 8.0 (StatSoft Inc., USA). Для определения характера распределения признаков применяли W-критерий Шапиро-Уилка. Так как распределение признаков имело ненормальный характер, для оценки различий между исследуемыми группами мы использовали непараметрический критерий  $\chi^2$  с поправкой Йейтса на непрерывность вариации. Критический уровень значимости принимался  $p < 0,05$ . Пороговые значения уровней антител (cut-off) были рассчитаны с помощью ROC-анализа [12]. Показатель отношения шансов (OR) с доверительным интервалом (CI) при 95% уровне значимости применяли для оценки взаимосвязи исследуемых антител с рецепторным статусом опухоли молочной железы. Взаимосвязь между исследуемыми антителами оценивалась с помощью ранговой корреляции Спирмена.

### Результаты

Поскольку предыдущими исследованиями было показано, что наиболее информативными иммунологическими маркерами риска возникновения РМЖ являются индивидуальные соотношения уровней антител IgA-Bp/IgA-Pg

и IgA-Es/IgA-Pg и их комбинации, именно эти показатели были использованы в настоящей работе.

Изучение предполагаемого участия специфических антител против химических канцерогенов окружающей среды и эндогенных стероидных гормонов в злокачественной трансформации нормальных клеток молочной железы выполняли путём сопоставления указанных показателей у здоровых женщин и больных РМЖ I стадии с ER+ и ER- опухолями. В **таблице 1** представлены полученные результаты.

Низкие значения IgA-Bp/IgA-Pg  $\leq 1$  (позиция 1.1) у здоровых женщин встречались статистически значимо чаще (60,7%), чем у больных РМЖ ER+ (23,3%; OR = 0,2) и ER- (30,4%; OR = 0,3). Соответственно высокие значения IgA-Bp/IgA-Pg  $> 1$  у здоровых женщин встречались реже (39,3%), чем у больных РМЖ ER+ (76,7%, OR = 5,1) и ER- (69,6%, OR = 3,5). Аналогичные различия между этими сравниваемыми группами обнаружены и при анализе соотношения IgA-Es/IgA-Pg (позиция 1.2).

Однако эти закономерности проявлялись только когда и IgA-Bp/IgA-Pg, и IgA-Es/IgA-Pg были низкими (позиция 2.1; OR = 0,2 и OR = 0,4, соответственно) или одновременно высокими (позиция 2.4; OR = 4,9 и OR = 3,7, соответственно). При комбинации IgA-Bp/IgA-Pg  $> 1$  с IgA-Es/IgA-Pg  $\leq 1$  (позиция 2.2) различия меж-

**Таблица 1.**

Число (n) и частота встречаемости (%) низких ( $\leq 1$ ) и высоких ( $> 1$ ) значений индивидуальных соотношений IgA-Bp/IgA-Pg и IgA-Es/IgA-Pg и их возможных комбинаций у здоровых женщин и больных РМЖ I стадии с ER+ и ER- опухолями.

**Table 1.**

Absolute numbers (n) and prevalence (%) of low ( $\leq 1$ ) and high ( $> 1$ ) IgA-Bp/IgA-Pg and IgA-Es/IgA-Pg ratios and their combinations in healthy women and stage 1 breast cancer patients with ER+ and ER- tumors.

Соотношения антител, комбинации соотношений / Antibodies ratios and combinations	Здоровые женщины Healthy women n = 338		I стадия РМЖ ER+ Stage 1 breast cancer, ER+ n = 472		I стадия РМЖ ER- Stage 1 breast cancer patients, ER- n = 92		
	n / %	n / %	$\chi^2$ (p)	OR (95%CI)	n / %	$\chi^2$ (p)	OR (95%CI)
1.1 IgA-Bp/IgA-Pg $\leq 1$	205 / 60,7	110 / 23,3	114,02 (<0,0001)	0,2 (0,1-0,3)	28 / 30,4	25,39 (<0,0001)	0,3 (0,2-0,5)
IgA-Bp/IgA-Pg $> 1$	133 / 39,3	362 / 76,7			64 / 69,6		
1.2 IgA-Es/IgA-Pg $\leq 1$	188 / 55,6	114 / 24,2	82,07 (<0,0001)	0,3 (0,2-0,3)	32 / 34,8	11,75 (0,0006)	0,4 (0,3-0,7)
IgA-Es/IgA-Pg $> 1$	150 / 44,4	358 / 75,8			60 / 65,2		
2.1 IgA-Bp/IgA-Pg $\leq 1$ + IgA-Es/IgA-Pg $\leq 1$	148 / 43,8	61 / 12,9	96,39 (<0,0001)	0,2 (0,1-0,3)	22 / 23,9	11,13 (0,0008)	0,4 (0,2-0,7)
2.2 IgA-Bp/IgA-Pg $> 1$ + IgA-Es/IgA-Pg $\leq 1$	40 / 11,8	53 / 11,2	0,03 (0,86)	-	10 / 10,9	0,01 (0,91)	-
2.3 IgA-Bp/IgA-Pg $\leq 1$ + IgA-Es/IgA-Pg $> 1$	57 / 16,9	49 / 10,4	6,84 (0,009)	0,6 (0,4-0,9)	6 / 6,5	5,39 (0,02)	0,3 (0,1-0,8)
2.4 IgA-Bp/IgA-Pg $> 1$ + IgA-Es/IgA-Pg $> 1$	93 / 27,5	309 / 65,5	110,53 (<0,0001)	4,9 (3,6-6,7)	54 / 58,7	29,88 (<0,0001)	3,7 (2,3-6,0)

ду сравниваемыми группами отсутствовали. Более того, низкие значения IgA-Bp/IgA-Pg $\leq$ 1 в комбинации с высокими значениями IgA-Es/IgA-Pg $>$ 1 (позиция 2.3) у здоровых женщин встречались чаще (16,9%), чем у больных РМЖ ER+ (10,4%;  $p = 0,009$ ; OR = 0,6) и ER- (6,5%;  $p = 0,02$ ; OR = 0,3).

Комбинации низких значений указанных соотношений у больных РМЖ ER+ обнаруживали реже, чем у больных РМЖ ER- (12,9% против 23,9%), а комбинации высоких значений – соответственно чаще (65,5% против 58,7%). Эти различия между больными РМЖ I стадии с ER+ и ER- опухолями оказались статистически значимыми ( $p = 0,017$ ).

При сравнении больных РМЖ с ER+ и ER- опухолями по стадиям вне связи с исследуемыми антителами выяснилось следующее (таблица 2). Доля больных с ER+ опухолями при I стадии (83,7%) снижалась ко II стадии (74,5%) и к III + IV стадии (74,2%). Соответственно повышалась доля больных с ER- опухолями с 16,3% до 25,5% и до 25,8% ( $p < 0,0001$ ). Поскольку разница по частоте ER+ и ER- опухолей между II и III + IV стадиями практически отсутствовала дальнейшее изучение искомым ассоциаций антител против Bp, Es и Pg с прогрессией РМЖ проводили, объединив пациентов со II и с III + IV стадиями заболевания.

Стадии / Stages	РМЖ ER+ / Breast cancer ER+	РМЖ ER- / Breast cancer ER-
	n / %	n / %
I стадия / Stage 1	472 / 83,7	92 / 16,3
II стадия / Stage 2	443 / 74,5	152 / 25,5
III + IV стадии / Stages 3-4	184 / 74,2	64 / 25,8
	$\chi^2$ , (p), df = 2	
	17,41 (<0,001)	

Таблица 2.

Число (n) и частота встречаемости (%) ER+ и ER- опухолей у больных РМЖ I, II и III + IV стадий.

Table 2.

Absolute numbers (n) and prevalence (%) of ER+ and ER- tumors at ascending stages of breast cancer patients.

В таблице 3 приведены полученные результаты. Низкие значения IgA-Bp/IgA-Pg $\leq$ 1 при ER+ и ER- опухолях у больных РМЖ I стадии (79,7% и 20,3% соответственно) встречались почти с такой же частотой у больных II–IV стадий (75,4% и 24,6%, соответственно;  $p = 0,42$ ). В то же время у больных с высокими

значениями IgA-Bp/IgA-Pg $>$ 1 частота обнаружения ER+ опухолей у больных РМЖ с I стадией была выше, чем у больных со II–IV стадиями (84,9% против 74,1%). Соответственно, доля больных РМЖ с ER- опухолями на I стадии была ниже, чем на II–IV стадиях (15,1% против 25,9%).

Соотношения антител и их комбинации / Antibodies ratios and their combinations	I стадия / Stage 1 n = 564		II – IV стадии / Stages 2-4 n = 843		$\chi^2$ (p)
	РМЖ ER+ / Breast cancer ER+	РМЖ ER- / Breast cancer ER-	РМЖ ER+ / Breast cancer ER+	РМЖ ER- / Breast cancer ER-	
	(n = 472) n / %	(n = 92) n / %	(n = 627) n / %	(n = 216) n / %	
1.1 IgA-Bp/IgA-Pg $\leq$ 1	110 / 79,7	28 / 20,3	150 / 75,4	49 / 24,6	0,64 (0,42) 17,38 (<0,0001)
IgA-Bp/IgA-Pg $>$ 1	362 / 84,9	64 / 15,1	477 / 74,1	167 / 25,9	
1.2 IgA-Es/IgA-Pg $\leq$ 1	114 / 78,1	32 / 21,9	171 / 78,1	48 / 21,9	0,02 (0,89) 22,41 (<0,0001)
IgA-Es/IgA-Pg $>$ 1	358 / 85,6	60 / 14,4	456 / 73,1	168 / 26,9	
2.1 IgA-Bp/IgA-Pg $\leq$ 1 +IgA-Es/IgA-Pg $\leq$ 1	61 / 73,5	22 / 26,5	91 / 77,1	27 / 22,9	0,18 (0,67)
2.2 IgA-Bp/IgA-Pg $>$ 1 +IgA-Es/IgA-Pg $\leq$ 1	53 / 84,1	10 / 15,9	80 / 79,2	21 / 20,8	0,33 (0,56)
2.3 IgA-Bp/IgA-Pg $\leq$ 1 +IgA-Es/IgA-Pg $>$ 1	49 / 89,1	6 / 10,9	59 / 72,8	22 / 27,2	4,34 (0,038)
2.4 IgA-Bp/IgA-Pg $>$ 1 +IgA-Es/IgA-Pg $>$ 1	309 / 85,1	54 / 14,9	397 / 73,1	146 / 26,9	17,56 (<0,0001)

Таблица 3.

Число (n) и частота встречаемости (%) ER+ и ER- опухолей у больных РМЖ I и II – IV стадий с низкими ( $\leq 1$ ) и высокими ( $> 1$ ) значениями IgA-Bp/IgA-Pg и IgA-Es/IgA-Pg и их возможных комбинаций.

Table 3.

Absolute numbers (n) and prevalence (%) of ER+ and ER- tumors in breast cancer patients with low ( $\leq 1$ ) and high ( $> 1$ ) IgA-Bp/IgA-Pg and IgA-Es/IgA-Pg ratios and their combinations.

Различия между пациентами сравниваемых групп с высокими значениями индивидуальных соотношений IgA-Bp/IgA-Pg $>1$  оказались статистически значимыми ( $p < 0,0001$ ), аналогичными представленным в **таблице 2**.

Такие же особенности распределения больных РМЖ по стадиям с учётом ER в опухоли выявлены при анализе соотношениями IgA-Es/IgA-Pg. У пациенток с низкими соотношениями IgA-Es/IgA-Pg $\leq 1$  различия между сравниваемыми группами отсутствовали ( $p = 0,89$ ), а у пациенток с высокими соотношениями IgA-Es/IgA-Pg $>1$  были статистически значимыми ( $p < 0,0001$ ).

Описанные ассоциации проявлялись только при определённых комбинациях исследуемых соотношений. Сравнимые группы не различались при низких значениях IgA-Bp/IgA-Pg $\leq 1$  и IgA-Es/IgA-Pg $\leq 1$  (позиция 2.1;  $p = 0,67$ ) и при сочетании высоких значений IgA-Bp/IgA-Pg $>1$  с низкими значениями IgA-Es/

IgA-Pg $\leq 1$  (позиция 2.2;  $p = 0,56$ ). При сочетании IgA-Bp/IgA-Pg $\leq 1$  с IgA-Es/IgA-Pg $>1$  (позиция 2.3) доля РМЖ с ER $^+$  опухолями I стадии была больше (89,1%), чем при II-IV стадиях (72,8%). Соответственно возрастала доля больных с ER- опухолями (10,9% против 27,2%,  $p = 0,038$ ). Максимально статистически значимые различия в таком сравнении обнаружены у больных с одновременно высокими значениями IgA-Bp/IgA-Pg $>1$  и IgA-Es/IgA-Pg $>1$  (позиция 2.4;  $p < 0,0001$ ).

Для последующего объяснения полученных результатов исследовали взаимосвязи между уровнями IgA-Bp и IgA-Es (**таблице 4**). Обнаружили прямые положительные статистически значимые корреляции между этими показателями с  $r_s = 0,71-0,82$  ( $p < 0,0001$ ) как у здоровых женщин, так и у больных РМЖ без каких-либо значимых различий в уравнениях корреляции в зависимости от стадии и ER-статуса опухоли.

**Таблица 4.**

Корреляции уровней IgA-Es (y) и IgA-Bp (x) у здоровых женщин и больных РМЖ.

**Table 4.**

Correlations of IgA-Es (y) and IgA-Bp (x) levels in healthy women and breast cancer patients.

Группа сравнения / Groups	РМЖ ER $^+$ / Breast cancer ER $^+$		РМЖ ER $^-$ / Breast cancer ER $^-$	
	$r_s$ (p)	$y = ax + b$	$r_s$ (p)	$y = ax + b$
1. РМЖ I стадия / Stage 1 breast cancer	0,77 ( $<0,0001$ )	$y = 0,65x + 0,82$	0,72 ( $<0,0001$ )	$y = 0,65x + 0,80$
2. РМЖ II стадия / Stage 2 breast cancer	0,76 ( $<0,0001$ )	$y = 0,64x + 0,87$	0,76 ( $<0,0001$ )	$y = 0,85x + 0,26$
3. РМЖ III + IV стадии / Stages 3-4 breast cancer	0,71 ( $<0,0001$ )	$y = 0,78x + 0,50$	0,82 ( $<0,0001$ )	$y = 0,72x + 0,79$
4. Здоровые / Healthy women	0,78 ( $<0,0001$ )	$y = 1,00x + 0,45$		

Согласно классической модели, химический канцерогенез включает в себя три последовательных этапа: инициацию, промоцию и прогрессию [13]. В экспериментах *in vitro* показано, что Bp и Es и их генотоксические метаболиты оказывают выраженное иницирующее действие на клетки молочной железы, при этом метаболиты Bp проявляют эстрогеновую или антиэстрогеновую активность, а Es может усиливать генотоксические эффекты Bp [14–17]. Es стимулирует пролиферацию ER $^+$  раковых клеток, а Pg ингибирует Es-индуцированный рост ER $^+$  опухолевых эксплантов [18, 20].

Иницирующие эффекты Bp и Es реализуются в виде образования аддуктов их метаболитов с ДНК [21–24]. Количество Bp-ДНК аддуктов возрастает при обработке *in vitro* ER $^+$  раковых клеток молочной железы Bp в сочета-

нии с Es [17]. Можно предположить, что сочетанное образование ДНК аддуктов с Bp и Es ассоциировано с большим риском возникновения и прогрессии РМЖ и других онкологических заболеваний, однако, исследование в этом направлении не проводилось ни в эксперименте, ни в клинике.

В наших предыдущих работах показано, что одновременное превышение уровней IgA-Bp и IgA-Es над уровнем IgA-Pg у больных РМЖ встречается чаще, чем у здоровых женщин [8]. Очевидно, что этот феномен, названный нами иммунологической интерференцией, отражает одновременное образование аддуктов ДНК с Bp и Es. Взаимосвязь проканцерогенного иммунологического фенотипа с нарушением физиологического гормонального баланса Es/Pg, характерного для РМЖ [9, 25], свидетельствует

о том, что антитела, специфичные к Вр, Es и Pg, могут быть не только маркерами, но и участниками процессов инициации, промоции и прогрессии канцерогенеза молочной железы.

Настоящим исследованием выявлены неизвестные ранее взаимосвязи индивидуальных особенностей специфических иммунных реакций на химические канцерогены окружающей среды и эндогенные стероидные гормоны с ER при возникновении и прогрессии РМЖ у женщин в постменопаузе.

При сравнении здоровых женщин с больными РМЖ I стадии впервые обнаружено, что только одновременное превышение уровней IgA-Вр и IgA-Es над уровнем IgA-Pg (проканцерогенный иммунологический фенотип) ассоциировано с риском возникновения ER+ РМЖ в большей степени, чем с ER- РМЖ (OR = 4,9 против OR = 3,7 соответственно). У больных ER+ РМЖ проканцерогенный иммунологический фенотип встречается чаще, чем у больных ER- РМЖ (65,5% против 58,7%). В то же время, протективный иммунологический фенотип (превышение уровней IgA-Pg над уровнями IgA-Вр и IgA-Es) встречали реже (12,9% против 23,9%). Различия между больными ER+ и ER- РМЖ на I стадии с указанными иммунологическими фенотипами оказались статистически значимыми ( $p = 0,017$ ).

Сравнение больных РМЖ I стадии и II–IV стадий впервые показало, что конверсия ER+ опухолей в ER- характерна только для носителей проканцерогенного иммунологического фенотипа. Лишь при одновременном превышении уровней IgA-Вр и IgA-Es над уровнем IgA-Pg доля ER+ опухолей снижалась с 85,1% до 73,1%, а доля ER- опухолей вырастала с 14,9% до 26,9% ( $p < 0,0001$ ).

Известно, что иммунизация животных против Вр приводит к образованию специфических антител, модулирующих перераспределение Вр по внутренним органам [26]. Иммунизация против Es и Pg сопровождается повышением концентрации этих гормонов в сыворотке крови и модификацией их биологических эффектов [27, 28, 29]. В совокупности с этими данными полученные нами результаты позволяют утверждать, что IgA-Вр в комплексе с IgA-Es стимулируют инициацию и промоцию, трансформируя нормальные клетки в ER+ злокачественные, и прогрессию, трансформируя ER+ опухоли в ER-. В свою очередь IgA-Pg угнетают промоцию и прогрессию, препятствуя

малигнизации нормальных клеток и трансформации ER+ опухолевых клеток в ER-.

Практическое значение полученных результатов состоит, прежде всего, в повышении эффективности профилактики РМЖ селективными модуляторами ER. Здоровым женщинам с протективным иммунологическим феноменом применение этих средств не показано в связи с низким риском возникновения опухоли за счёт антипромоторного действия IgA-Pg. В то же время, превентивное применение препаратов, блокирующих ER, у женщин с проканцерогенным иммунологическим феноменом может оказаться более эффективным, поскольку именно у них возрастает риск возникновения преимущественно ER+ опухолей.

У больных РМЖ с протективным иммунологическим феноменом применение селективных модуляторов ER может быть более эффективным, так как для них не характерна конверсия ER+ опухолей в ER-. Высокая вероятность такой конверсии у больных РМЖ с проканцерогенным иммунологическим фенотипом ограничивает использование препаратов, блокирующих ER.

## Заключение

Высказанные предположения нуждаются в дальнейших подтверждениях, в частности, путём изучения ассоциаций отдельных иммунологических фенотипов с ER в метастазах и рецидивах по сравнению с первичной опухолью.

Особо интересным представляется изучение IgA-Вр, как потенциальных мишеней для профилактики и лечения злокачественных опухолей, индуцированных полициклическими ароматическими углеводородами. На основе результатов многочисленных экспериментов *in vitro* и *in vivo* предлагается создание антиканцерогенных вакцин, селективно стимулирующих образование специфических секреторных IgA-антител, связывающих канцерогены окружающей среды и тем самым предотвращающих их проникновение в поверхностный эпителий, распределение по органам-мишеням и тормозящих их иницирующие эффекты [30–33]. Очевидно, что применение таких вакцин не показано здоровым людям с протективным иммунологическим фенотипом и низким онкологическим риском. У людей с проканцерогенным иммунологическим фенотипом и высоким онкориском применение таких вакцин может с большей вероятностью дополнительно спровоцировать об-

разование сывороточных IgA-Вр. Это повлечёт за собой дополнительное образование IgA-Еs, как показал корреляционный анализ IgA-Вр и IgA-Еs в настоящем исследовании. В результате активизируется иммуностимуляция процессов инициации и промоции канцерогенеза.

В качестве альтернативы нами предлагается создание пробиотиков, модифицированных генами человеческих анти-канцерогенных антител [32]. Предполагается, что такие пробиотики тоже будут специфически связывать канцерогены окружающей среды, не индуцируя при этом дополнительного синтеза сывороточных антител. Ограничение транспорта канцерогена в кровь, даже при высоком уровне аутологичных специфических IgA-антител, будет тормозить образование аддуктов канцероген-ДНК. Кроме того, будет угнетаться активность ферментов биотрансформации Es в генотоксичные мета-

болиты, характерная для Вр [33], и образование аддуктов Es-ДНК. В результате у здоровых людей и больных раком с проканцерогенным иммунологическим фенотипом будут ослаблены процессы инициации, промоции и прогрессии, в том числе трансформация нормальных клеток в ER+ злокачественные и конверсия ER+ опухолей в ER-. В свою очередь, это позволит повысить эффективность применения селективных модификаторов ER.

Предлагаемая стратегия профилактики и лечения канцероген-индуцированных стероид-зависимых злокачественных опухолей селективными модуляторами ER и анти-канцерогенного иммунитета с использованием антител, специфичных к Вр, Es и Pg в качестве маркеров канцерогенеза и терапевтических мишеней, представляется перспективной основой для дальнейших исследований.

## Литература :

- Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. (ред.) *Злокачественные новообразования в России в 2019 году (заболеваемость и смертность)*. Москва : МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; 2020. 252 с. Ссылка активна на 06.12.2021. [https://glavonco.ru/cancer\\_register/Забол\\_2019\\_Электр.pdf](https://glavonco.ru/cancer_register/Забол_2019_Электр.pdf)
- Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021;71(3):209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- LaCroix AZ, Powles T, Osborne CK, Wolter K, Thompson JR, Thompson DD, Allred DC, Armstrong R, Cummings SR, Eastell R, Ensrud KE, Goss P, Lee A, Neven P, Reid DM, Curto M, Vukicevic S. Breast cancer incidence in the randomized PEARL trial of lasofoxifene in postmenopausal osteoporotic women. *J Natl Cancer Inst*. 2010;102(22):1706-1715. <https://doi.org/10.1093/jnci/djq415>
- Sestak I. Preventative therapies for healthy women at high risk of breast cancer. *Cancer Manag Res*. 2014;6:423-430. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S55219>
- Vogel VG. Role of hormones in cancer prevention. *ASCO Educational Book*. 2014;34:34-40. [https://doi.org/10.14694/EdBook\\_AM.2014.34.34](https://doi.org/10.14694/EdBook_AM.2014.34.34)
- Howlander N, Altekruse SF, Li CI, Chen VW, Clarke CA, Ries LA, Cronin KA. US incidence of breast cancer subtypes defined by joint hormone receptor and HER2 status. *J Natl Cancer Inst*. 2014;106(5):dju055. <https://doi.org/10.1093/jnci/dju055>
- Шашова Е.Е., Кондакова И.В., Слонимская Е.М., Глущенко С.А. Сравнительное изучение содержания рецепторов эстрогенов и прогестерона в неизменной, опухолевой и метастатической тканях при раке молочной железы. *Сибирский онкологический журнал*. 2008;4(28):42-45.
- Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Костянко М.В., Рогозин А.И., Антонов А.В., Вержбицкая Н.Е. Совместное влияние антител к бензо[а]пирену, эстрадиолу и прогестерону на содержание женских половых гормонов в сыворотке крови у больных раком молочной железы. *Российский иммунологический журнал*. 2018;12(1):40-45. <https://doi.org/10.7868/S1028722118010057>
- Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Мун С.А., Гордеева Л.А., Костянко М.В., Луценко В.А., Колпинский Г.И., Брежнева Е.В., Вафин И.А. Индивидуальный иммунологический фенотип и гормональный баланс у женщин в постменопаузе. *Российский иммунологический журнал*. 2020;23(1):61-68. <https://doi.org/10.15789/1028-7221-007-IPA>
- Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Магарилл Ю.А., Аносова Т.П., Антонов А.В., Вержбицкая Н.Е. Антитела к бензо[а]пирену, эстрадиолу и прогестерону у больных раком молочной железы в постменопаузе. *Сибирский онкологический журнал*. 2016;15(6):28-34. <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2016-15-6-28-34>
- Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Мун С.А., Гордеева Л.А., Костянко М.В., Антонов А.В., Вержбицкая Н.Е., Вафин И.А. Индивидуальный иммунологический фенотип и риск рака молочной железы у женщин в постменопаузе. *Российский иммунологический журнал*. 2019;13(1):44-52. <https://doi.org/10.31857/S102872210005019-5>
- Hajian-Tilaki K. Receiver Operating Characteristic (ROC) Curve Analysis for Medical Diagnostic Test Evaluation. *Caspian J Intern Med*. 2013;4(2):627-635.
- McCreery MQ, Balmain A. Chemical carcinogenesis models of cancer: back to the future. *Annu Rev Cancer Biol*. 2017;1:295-312. <https://doi.org/10.1146/annurev-cancerbio-050216-122002>
- Charles GD, Bartles MJ, Zacharewski TR, Gollapudi BB, Freshour NL, Carney EW. Activity of benzo[a]pyrene and its hydroxylated metabolites in an estrogen receptor-alpha reporter gene assay. *Toxicol Sci*. 2000;55(2):320-326. <https://doi.org/10.1093/toxsci/55.2.320>
- Hirose T, Morito K, Kizu R, Toriba A, Hayakawa K, Ogawa S, Inoue S, Muramatsu M, Masamune Y. Estrogenic/antiestrogenic activities of benzo[a]pyrene monohydroxy derivatives. *J Health Sci*. 2001;47(6):552-558. <https://doi.org/10.1248/jhs.47.552>
- Fertuck KC, Matthews JB, Zacharewski TR. Hydroxylated benzo[a]pyrene metabolites are responsible for in vitro estrogen receptor-mediated gene expression induced by benzo[a]pyrene, but do not elicit uterotrophic effects in vivo. *Toxicol Sci*. 2001;59(2):231-240. <https://doi.org/10.1093/toxsci/59.2.231>
- Kang SC, Lee B M. Effect of estrogen receptor (ER) on benzo[a]pyrene-DNA adduct formation in human breast cancer cells. *J Toxicol Environ Health, Part A*. 2005;68:1833-1840. <https://doi.org/10.1080/15287390500182883>
- Mohammed H, Russell IA, Stark R, Rueda OM, Hickey TE, Tarulli GA, Serandour AA, Birrell SN, Bruna A, Saadi A, Menon S, Hadfield J, Pugh M, Raj GV, Brown GD, D'Santos C, Robinson JL, Silva G, Lauchbury R, Perou CM, Stingl J, Caldas C, Tilley WD, Carroll JS. Progesterone receptor modulates ER $\alpha$  action in breast cancer. *Nature*. 2015;523(7560):313-317. <https://doi.org/10.1038/nature14583>
- Li Q, Gao H, Yang H, Wei W, Jiang Y. Estradiol promotes the

- progression of ER+ breast cancer through methylation-mediated RSK4 inactivation. *Oncotargets and Therapy*. 2019;12:5907-5916. <https://doi.org/10.2147/OTT.S208988>
20. Gammon MD, Sagiv SK, Eng SM, Shantakumar S, Gaudet MM, Teitelbaum SL, Britton JA, Terry MB, Wang LW, Wang Q, Stellman SD, Beyea J, Hatch M, Kabat GC, Wolff MS, Levin B, Neugut AI, Santella RM. Polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts and breast cancer: a pooled analysis. *Arch Environ Health*. 2004;59(12):640-649. <https://doi.org/10.1080/00039890409602948>
  21. Santella RM, Gammon MD, Zhang YJ, Motykiewicz G, Young TL, Hayes SC, Terry MB, Schoenberg JB, Brinton LA, Bose S, Teitelbaum SL, Hibshoosh H. Immunohistochemical analysis of polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts in breast tumor tissue. *Cancer Lett*. 2000;154(2):143-149. [https://doi.org/10.1016/S0304-3835\(00\)00367-0](https://doi.org/10.1016/S0304-3835(00)00367-0)
  22. Rundle A, Tang D, Hibshoosh H, Estabrook A, Schnabel F, Cao W, Grumet S, Perera FP. The relationship between genetic damage from polycyclic aromatic hydrocarbons in breast tissue and breast cancer. *Carcinogenesis*. 2000;21(7):1281-1289. <https://doi.org/10.1093/carcin/21.5.281>
  23. Yager JD. Mechanisms of estrogen carcinogenesis: The role of E2/E1-quinone metabolites suggests new approaches to preventive intervention – A review. *Steroids*. 2015;99(Pt A):56-60. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2014.08.006>
  24. Cavalieri EL, Rogan EG. Depurinating estrogen-DNA adducts, generators of cancer initiation: their minimization leads to cancer prevention. *Clinical and Translational Medicine*. 2016;5:12. <https://doi.org/10.1186/s40169-016-0088-3>
  25. Glushkov AN, Polenok EG, Mun SA, Gordeeva LA. Inversion of natural immuno-hormonal interactions under influence of antibodies against environmental chemical carcinogens. *Med. Hypotheses*. 2020;144:109981. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2020.109981>
  26. Grova N, Prodhomme EJ, Schellenberger MT, Farinelle S, Muller CP. Modulation of carcinogen bioavailability by immunisation with benzo[a]pyrene – conjugate vaccines. *Vaccine*. 2009;27(31):4142-4151. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.04.052>
  27. Rawlings NC, Kennedy SW, Henricks DM. The active immunization of the cyclic ewe against an estrone protein conjugate. *Theriogenology*. 1979;12(3):139-151. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(79\)90080-3](https://doi.org/10.1016/0093-691X(79)90080-3)
  28. Wise T, Ferrell C. Effects of immunization of heifers against estradiol on growth, reproductive traits, and carcass characteristics. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1984;176(3):243-248. <https://doi.org/10.3181/00379727-176-41866>
  29. Rosenberg M, Amir D, Folman Y. The effect of active immunization against progesterone on plasma concentrations of total and free progesterone, estradiol-17beta and LH in the cyclic ewe. *Theriogenology*. 1987;28(4):417-426. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(87\)90246-9](https://doi.org/10.1016/0093-691X(87)90246-9)
  30. Silbart LK, Rasmussen HV, Oliver AR. Immunoprophylactic intervention in chemical toxicity and carcinogenicity. *Vet. Hum. Toxicol*. 1997;39(1):37-43.
  31. De Buck SS, Muller CP. Immunoprophylactic approaches against chemical carcinogenesis. *Vaccine*. 2005;23(17-18):2403-2406. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.01.020>
  32. Schellenberger MT, Farinelle S, Willièmi S, Muller CP. Evaluation of adjuvants for a candidate conjugate vaccine against benzo[a]pyrene. *Hum. Vaccin*. 2011;7(1):166-173. <https://doi.org/10.4161/hv.7.0.14579>
  33. Černohorská H, Klimešová S, Lepša L, Jinoch P, Milcová A, Schmuczerová J, Topinka J, Lábaj J. Influence of immunization with non-genotoxic PAH-KLH conjugates on the resistance of organisms exposed to benzo[a]pyrene. *Mut Res*. 2012;742(1-2):2-10. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2011.10.016>
  34. Glushkov AN, Polenok EG, Mun SA, Gordeeva LA. Immunization against environmental chemical carcinogens: pro and contra. *Medical Hypotheses*. 2019;131:109303. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2019.109303>
  35. Lin S, Lin CJ, Hsieh DP, Li LA. ER $\alpha$  phenotype, estrogen level, and benzo[a]pyrene exposure modulate tumor growth and metabolism of lung adenocarcinoma cells. *Lung Cancer*. 2012;75(3):285-292. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2011.08.010>

## References:

1. Kaprina AD, Starinskiy VV, Shakhzadov AO, edit. *Malignant neoplasms in Russia in 2019 (morbidity and mortality)*. Moscow: PA Herten Moscow Oncology Research Institute – Branch of the National Medical Research Radiological Centre; 2020. 252 p. (In Russ). [https://glavonco.ru/cancer\\_register/Забол\\_2019\\_Электр.pdf](https://glavonco.ru/cancer_register/Забол_2019_Электр.pdf)
2. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021;71(3):209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
3. LaCroix AZ, Powles T, Osborne CK, Wolter K, Thompson JR, Thompson DD, Allred DC, Armstrong R, Cummings SR, Eastell R, Ensrud KE, Goss P, Lee A, Neven P, Reid DM, Curto M, Vukicevic S. Breast cancer incidence in the randomized PEARL trial of lasofoxifene in postmenopausal osteoporotic women. *J Natl Cancer Inst*. 2010;102(22):1706-1715. <https://doi.org/10.1093/jnci/djq415>
4. Sestak I. Preventative therapies for healthy women at high risk of breast cancer. *Cancer Manag Res*. 2014;6:423-430. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S55219>
5. Vogel VG. Role of hormones in cancer prevention. *ASCO Educational Book*. 2014;34:34-40. [https://doi.org/10.14694/EdBook\\_AM.2014.34.34](https://doi.org/10.14694/EdBook_AM.2014.34.34)
6. Howlader N, Altekruse SF, Li CI, Chen VW, Clarke CA, Ries LA, Cronin KA. US incidence of breast cancer subtypes defined by joint hormone receptor and HER2 status. *J Natl Cancer Inst*. 2014;106(5):dju055. <https://doi.org/10.1093/jnci/dju055>
7. Shashova EE, Kondakova IV, Slonimskaya EM, Glushchenko SA. Comparative study of the levels of estrogen and progesterone receptors in normal, tumor and metastatic tissues of breast cancer patients. *Siberian journal of oncology*. 2008;4(28):42-45. (In Russ).
8. Glushkov AN, Polenok EG, Kostyanko MV, Rogozin AI, Antonov AV, Verzhbitskaya NE. Combination effects of antibodies to benzo[a]pyrene, estradiol and progesterone onto concentrations of female sex hormones in blood serum of the breast cancer patients risks. *Russian Journal of Immunology*. 2018;12(1):40-45. (In Russ). <https://doi.org/10.7868/S1028722118010057>
9. Glushkov AN, Polenok EG, Mun SA, Gordeeva LA, Kostyanko MV, Lutsenko VA, Kolpinskiy GI, Brezhneva EV, Vafin IA. Immunological phenotype and hormonal balance in postmenopausal women. *Russian Journal of Immunology*. 2020;23(1):61-68. (In Russ). <https://doi.org/10.15789/1028-7221-007-IPA>
10. Glushkov AN, Polenok EG, Magarill YA, Anosova TP, Antonov AV, Verzhbitskaya NE. Antibodies to benzo[a]pyrene, estradiol and progesterone in the postmenopausal breast cancer women. *Siberian journal of oncology*. 2016;15(6):28-34. (In Russ). <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2016-15-6-28-34>
11. Glushkov AN, Polenok EG, Mun SA, Gordeeva LA, Kostyanko MV, Antonov AV, Verzhbitskaya NE, Vafin IA. Personal immunological phenotype and breast cancer risk in postmenopausal women. *Russian Journal of Immunology*. 2019;13(1):44-52. (In Russ). <https://doi.org/10.31857/S102872210005019-5>
12. Hajian-Tilaki K. Receiver Operating Characteristic (ROC) Curve Analysis for Medical Diagnostic Test Evaluation. *Caspian J Intern Med*. 2013;4(2):627-635.
13. McCreery MQ, Balmain A. Chemical carcinogenesis models of cancer: back to the future. *Annu Rev Cancer Biol*. 2017;1:295-312. <https://doi.org/10.1146/annurev-cancerbio-050216-122002>
14. Charles GD, Bartles MJ, Zacharewski TR, Gollapudi BB, Freshour NL, Carney EW. Activity of benzo[a]pyrene and its hydroxylated metabolites in an estrogen receptor-alpha reporter gene assay. *Toxicol. Sci*. 2000;55(2):320-326. <https://doi.org/10.1093/toxsci/55.2.320>
15. Hirose T, Morito K, Kizu R, Toriba A, Hayakawa K, Ogawa S, Inoue S, Muramatsu M, Masamune Y. Estrogenic/antiestrogenic activities of benzo[a]pyrene monohydroxy derivatives. *J Health Sci*. 2001;47(6):552-558. <https://doi.org/10.1248/jhs.47.552>
16. Fertuck KC, Matthews JB, Zacharewski TR. Hydroxylated benzo[a]

- pyrene metabolites are responsible for in vitro estrogen receptor-mediated gene expression induced by benzo[a]pyrene, but do not elicit uterotrophic effects in vivo. *Toxicol Sci.* 2001;59(2):231-240. <https://doi.org/10.1093/toxsci/59.2.231>
17. Kang SC, Lee B M. Effect of estrogen receptor (ER) on benzo[a]pyrene-DNA adduct formation in human breast cancer cells. *J. Toxicol Environ Health, Part A.* 2005;68:1833-1840. <https://doi.org/10.1080/15287390500182883>
  18. Mohammed H, Russell IA, Stark R, Rueda OM, Hickey TE, Tarulli GA, Serandour AA, Birrell SN, Bruna A, Saadi A, Menon S, Hadfield J, Pugh M, Raj GV, Brown GD, D'Santos C, Robinson JL, Silva G, Launchbury R, Perou CM, Stingl J, Caldas C, Tilley WD, Carroll JS. Progesterone receptor modulates ER $\alpha$  action in breast cancer. *Nature.* 2015;523(7560):313-317. <https://doi.org/10.1038/nature14583>
  19. Li Q, Gao H, Yang H, Wei W, Jiang Y. Estradiol promotes the progression of ER+ breast cancer through methylation-mediated RSK4 inactivation. *Oncotargets and Therapy.* 2019;12:5907-5916. <https://doi.org/10.2147/OTT.S208988>
  20. Gammon MD, Sagiv SK, Eng SM, Shantakumar S, Gaudet MM, Teitelbaum SL, Britton JA, Terry MB, Wang LW, Wang Q, Stellman SD, Beyea J, Hatch M, Kabat GC, Wolff MS, Levin B, Neugut AI, Santella RM. Polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts and breast cancer: a pooled analysis. *Arch Environ Health.* 2004;59(12):640-649. <https://doi.org/10.1080/00039890409602948>
  21. Santella RM, Gammon MD, Zhang YJ, Motykiewicz G, Young TL, Hayes SC, Terry MB, Schoenberg JB, Brinton LA, Bose S, Teitelbaum SL, Hibshoosh H. Immunohistochemical analysis of polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts in breast tumor tissue. *Cancer Lett.* 2000;154(2):143-149. [https://doi.org/10.1016/S0304-3835\(00\)00367-0](https://doi.org/10.1016/S0304-3835(00)00367-0)
  22. Rundle A, Tang D, Hibshoosh H, Estabrook A, Schnabel F, Cao W, Grumet S, Perera FP. The relationship between genetic damage from polycyclic aromatic hydrocarbons in breast tissue and breast cancer. *Carcinogenesis.* 2000;21(7):1281-1289. <https://doi.org/10.1093/carcin/21.5.281>
  23. Yager JD. Mechanisms of estrogen carcinogenesis: The role of E2/E1-quinone metabolites suggests new approaches to preventive intervention – A review. *Steroids.* 2015;99(Pt A):56-60. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2014.08.006>
  24. Cavalieri EL, Rogan EG. Depurinating estrogen-DNA adducts, generators of cancer initiation: their minimization leads to cancer prevention. *Clinical and Translational Medicine.* 2016;5:12. <https://doi.org/10.1186/s40169-016-0088-3>
  25. Glushkov AN, Polenok EG, Mun SA, Gordeeva LA. Inversion of natural immuno-hormonal interactions under influence of antibodies against environmental chemical carcinogens. *Med. Hypotheses.* 2020;144:109981. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2020.109981>
  26. Grova N, Prodhomme EJ, Schellenberger MT, Farinelle S, Muller CP. Modulation of carcinogen bioavailability by immunisation with benzo[a]pyrene – conjugate vaccines. *Vaccine.* 2009;27(31):4142-4151. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.04.052>
  27. Rawlings NC, Kennedy SW, Henricks DM. The active immunization of the cyclic ewe against an estrone protein conjugate. *Theriogenology.* 1979;12(3):139-151. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(79\)90080-3](https://doi.org/10.1016/0093-691X(79)90080-3)
  28. Wise T, Ferrell C. Effects of immunization of heifers against estradiol on growth, reproductive traits, and carcass characteristics. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1984;176(3):243-248. <https://doi.org/10.3181/00379727-176-41866>
  29. Rosenberg M, Amir D, Folman Y. The effect of active immunization against progesterone on plasma concentrations of total and free progesterone, estradiol-17 $\beta$  and LH in the cyclic ewe. *Theriogenology.* 1987;28(4):417-426. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(87\)90246-9](https://doi.org/10.1016/0093-691X(87)90246-9)
  30. Silbart LK, Rasmussen HV, Oliver AR. Immunoprophylactic intervention in chemical toxicity and carcinogenicity. *Vet. Hum. Toxicol.* 1997;39(1):37-43.
  31. De Buck SS, Muller CP. Immunopropylactic approaches against chemical carcinogenesis. *Vaccine.* 2005;23(17-18):2403-2406. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2005.01.020>
  32. Schellenberger MT, Farinelle S, Willième S, Muller CP. Evaluation of adjuvants for a candidate conjugate vaccine against benzo[a]pyrene. *Hum. Vaccin.* 2011;7(1):166-173. <https://doi.org/10.4161/hv.7.0.14579>
  33. Černožorská H, Klimešová S, Lepša L, Jinoch P, Milcová A, Schmutzerová J, Topinka J, Lábaj J. Influence of immunization with non-genotoxic PAH-KLH conjugates on the resistance of organisms exposed to benzo[a]pyrene. *Mut Res.* 2012;742(1-2):2-10. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2011.10.016>
  34. Glushkov AN, Polenok EG, Mun SA, Gordeeva LA. Immunization against environmental chemical carcinogens: pro and contra. *Medical Hypotheses.* 2019;131:109303. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2019.109303>
  35. Lin S, Lin CJ, Hsieh DP, Li LA. ER $\alpha$  phenotype, estrogen level, and benzo[a]pyrene exposure modulate tumor growth and metabolism of lung adenocarcinoma cells. *Lung Cancer.* 2012;75(3):285-292. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2011.08.010>

## Сведения об авторах

**Поленок Елена Геннадьевна**, кандидат фармацевтических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунохимии Института экологии человека Федерального исследовательского центра угля и углей химии Сибирского отделения Российской академии наук (650065, Россия, г. Кемерово, пр. Ленинградский, д. 10).

**Вклад в статью:** сбор данных, выполнение исследований, анализ полученных данных.

**ORCID:** 0000-0002-9368-2340

**Мун Стелла Андреевна**, кандидат медицинских наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории иммуногенетики Института экологии человека Федерального исследовательского центра угля и углей химии Сибирского отделения Российской академии наук (650065, Россия, г. Кемерово, пр. Ленинградский, д. 10).

**Вклад в статью:** статистический анализ данных.

**ORCID:** 0000-0002-5530-3469

**Гордеева Людмила Александровна**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммуногенетики Института экологии человека Федерального исследовательского центра угля и углей химии Сибирского отделения Российской академии наук (650065, Россия, г. Кемерово, пр. Ленинградский, д. 10).

**Вклад в статью:** статистический анализ данных.

**ORCID:** 0000-0001-5870-7584

## Authors

**Dr. Elena G. Polenok**, PhD, Leading Researcher, Laboratory of Immunochemistry, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry within the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (10, Leningradskiy Prospekt, Kemerovo, 650065, Russian Federation).

**Contribution:** collected the data; conducted ELISA measurements; performed the data analysis.

**ORCID:** 0000-0002-9368-2340

**Dr. Stella A. Mun**, MD, PhD, Senior Research Fellow, Laboratory of Immunogenetics, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry within the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (10, Leningradskiy Prospekt, Kemerovo, 650065, Russian Federation).

**Contribution:** performed the statistical analysis.

**ORCID:** 0000-0002-5530-3469

**Dr. Lyudmila A. Gordeeva**, PhD, Leading Researcher, Laboratory of Immunogenetics, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry within the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (10, Leningradskiy Prospekt, Kemerovo, 650065, Russian Federation).

**Contribution:** performed the statistical analysis.

**ORCID:** 0000-0001-5870-7584

**Костянко Михаил Владимирович**, ведущий инженер кафедры органической химии Института фундаментальных наук ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет» (650000, Россия, г. Кемерово, ул. Красная, д. 6).

**Вклад в статью:** выполнение исследований, анализ полученных данных.

**ORCID:** 0000-0003-0053-1752

**Антонов Александр Витальевич**, заведующий онкологическим отделением №5, ГБУЗ «Кузбасский клинический онкологический диспансер» (650036, Россия, г. Кемерово, ул. Волгоградская, д. 35).

**Вклад в статью:** предоставление клинических данных, обсуждение результатов.

**ORCID:** 0000-0003-0802-9759

**Вержбицкая Наталья Евгеньевна**, кандидат медицинских наук, заведующая патологоанатомическим отделением ГБУЗ «Кузбасский клинический онкологический диспансер» (650036, Россия, г. Кемерово, ул. Волгоградская, д. 35).

**Вклад в статью:** предоставление клинических данных, обсуждение результатов.

**ORCID:** 0000-0003-3860-825X

**Колпинский Глеб Иванович**, доктор медицинских наук, профессор кафедры лучевой диагностики и лучевой терапии с курсом онкологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (650056, Россия, г. Кемерово, ул. Ворошилова, д. 22а); главный врач ГАУЗ «Клинический консультативно-диагностический центр» (650066, Россия, г. Кемерово, пр. Октябрьский, д. 53/1).

**Вклад в статью:** предоставление клинических данных, обсуждение результатов.

**ORCID:** 0000-0002-5526-2687

**Глушков Андрей Николаевич**, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории иммуногенетики Института экологии человека Федерального исследовательского центра угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук (650065, Россия, г. Кемерово, пр. Ленинградский, д. 10).

**Вклад в статью:** обоснование цели, обсуждение результатов, написание рукописи, заключение.

**ORCID:** 0000-0002-8560-6719

Статья поступила: 12.01.2022г.

Принята в печать: 10.03.2022г.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

**Mr. Mikhail V. Kostyanko**, Leading Engineer, Department of Organic Chemistry, Institute of Basic Science, Kemerovo State University (6, Krasnaya Street, Kemerovo, 650000, Russian Federation).

**Contribution:** conducted the experiments; performed the data analysis.

**ORCID:** 0000-0003-0053-1752

**Dr. Alexander V. Antonov**, MD, Head of the Oncology Unit #5, Kuzbass Clinical Oncology Dispensary (35, Volgogradskaya Street, Kemerovo, 650036, Russian Federation).

**Contribution:** collected the clinical data.

**ORCID:** 0000-0003-0802-9759

**Dr. Natalia E. Verzhbitskaya**, MD, PhD, Head of the Pathology Unit, Kuzbass Clinical Oncology Dispensary (35, Volgogradskaya Street, Kemerovo, 650036, Russian Federation).

**Contribution:** collected the immunohistochemistry data.

**ORCID:** 0000-0003-3860-825X

**Prof. Gleb I. Kolpinskiy**, MD, DSc, Professor, Department of Radiology, Radiotherapy and Oncology, Kemerovo State Medical University (22a, Voroshilova Street, Kemerovo, 650056, Russian Federation); Head of Kemerovo Clinical Diagnostic Center (53/1, Oktyabrskiy Prospekt, Kemerovo, 650066, Russian Federation).

**Contribution:** collected the clinical data.

**ORCID:** 0000-0002-5526-2687

**Prof. Andrey N. Glushkov**, MD, DSc, Professor, Chief Researcher, Laboratory of Immunogenetics, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry within the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (10, Leningradskiy Prospekt, Kemerovo, 650065, Russian Federation).

**Contribution:** conceived and designed the study; wrote the manuscript.

**ORCID:** 0000-0002-8560-6719

Received: 12.01.2022

Accepted: 10.03.2022

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.