

Влияние карциноэмбрионального антигена на продукцию цитокинов у пациентов с раком молочной железы

А.А. Студеникина^{1,2✉}, <https://orcid.org/0000-0003-3936-1316>, aastudenikina@frcftm.ru

С.Л. Рыжикова³, <https://orcid.org/0009-0009-3169-3747>, ryzhikova@vector-best.ru

А.В. Проскура², <https://orcid.org/0000-0003-2313-1591>, pravdok52@gmail.com

А.И. Аутеншлюс^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0001-7180-010X>, lpiciip@211.ru

¹ Новосибирский государственный медицинский университет; 630091, Россия, Новосибирск, Красный проспект, д. 52

² Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины; 630060, Россия, Новосибирск, ул. Тимакова, д. 2/12

³ Вектор-Бест; 630559, Россия, Новосибирская область, р. п. Кольцово, Научно-производственная зона, корпус 36

Резюме

Введение. Несмотря на то что в ряде исследований обнаружена взаимосвязь между уровнем карциноэмбрионального антигена (СЕА) в крови и молекулярными подтипами рака молочной железы (РМЖ), существуют ограничения в применении СЕА как онкомаркера на ранних стадиях РМЖ, связанные с недостаточной чувствительностью этого маркера. Необходимы новые подходы к методике использования СЕА при РМЖ.

Цель. Оценить влияние СЕА на продукцию цитокинов клетками крови у пациенток с РМЖ при различных молекулярных подтипах.

Материалы и методы. Проведен анализ образцов крови 109 женщин с РМЖ в возрасте от 25 до 85 лет. Пациенток с РМЖ разделили на 5 подгрупп согласно молекулярному подтипу. С помощью иммуноферментного анализа изучалась спонтанная и СЕА индуцированная продукция цитокинов: IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, IL-1 β , IL-1Ra, TNF- α , IFN- γ , G-CSF, GM-CSF, VEGF и MCP-1.

Результаты. При люминальном А подтипе отмечалось снижение спонтанной и СЕА индуцированной продукции цитокинов по сравнению с другими молекулярными подтипами РМЖ. При анализе ROC-кривых было установлено, что превышение пороговых значений индекса влияния СЕА (ИВ_{СЕА}) на продукцию TNF- α и G-CSF свойственно люминальному В HER2-отрицательному подтипу. При люминальном В HER2-положительном подтипе отмечалось превышение пороговых значений: СЕА индуцированной продукции IL-6, IL-8, TNF- α и MCP-1; а также ИВ_{СЕА} на продукцию IL-1Ra. HER2-положительному подтипу соответствовало превышение пороговых значений: спонтанной продукции IL-8, G-CSF и MCP-1; СЕА и ИВ_{СЕА} на продукцию GM-CSF. Тройной негативный подтип характеризовался увеличением пороговых значений ИВ_{СЕА} на продукцию IL-8.

Заключение. Определение СЕА индуцированной продукции цитокинов клетками крови у больных РМЖ дает возможность выявить молекулярные подтипы с неблагоприятным исходом, в частности тройной негативный и HER2-положительный подтипы еще до проведения операционного вмешательства.

Ключевые слова: рак молочной железы, карциноэмбриональный антиген, клетки крови, цитокины, молекулярные подтипы

Для цитирования: Студеникина АА, Рыжикова СЛ, Проскура АВ, Аутеншлюс АИ. Влияние карциноэмбрионального антигена на продукцию цитокинов у пациентов с раком молочной железы. *Медицинский совет.* 2025;19(10):128–135. <https://doi.org/10.21518/ms2025-118>.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The effect of carcinoembryonic antigen on cytokine production in breast cancer patients

Anastasiia A. Studenikina^{1,2✉}, <https://orcid.org/0000-0003-3936-1316>, aastudenikina@frcftm.ru

Svetlana L. Ryzhikova³, <https://orcid.org/0009-0009-3169-3747>, ryzhikova@vector-best.ru

Andrey V. Proskura², <https://orcid.org/0000-0003-2313-1591>, pravdok52@gmail.com

Alexander I. Autenshlyus^{1,2}, <https://orcid.org/0000-0001-7180-010X>, lpiciip@211.ru

¹ Novosibirsk State Medical University; 52, Krasny Ave., Novosibirsk, 630091, Russia

² Institute of Molecular Biology and Biophysics of Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine; 2/12, Timakov St., Novosibirsk, 630060, Russia

³ Vector-Best; 36, Scientific and Production Zone, Koltsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russia

Abstract

Introduction. Despite the fact that several studies have found a correlation between the level of carcinoembryonic antigen (CEA) in the blood and the molecular subtypes of breast cancer (BC), there are limitations to using CEA as a cancer marker in the early stages of BC due to its lack of sensitivity. New approaches are needed to improve the methodology for using CEA in detecting BC.

Aim. To evaluate the effect of CEA on the production of cytokines by blood leukocytes in patients with BC with various molecular subtypes.

Materials and methods. Blood samples of 109 women with breast cancer aged 25–85 years were analyzed. Patients with breast cancer were divided into five subgroups according to the molecular subtype. Enzyme immunoassay was used to study spontaneous and CEA-induced cytokine production: IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, IL-1 β , IL-1Ra, TNF- α , IFN- γ , G-CSF, GM-CSF, VEGF and MCP-1.

Results. In the luminal A subtype, there was a decrease in spontaneous and CEA-induced cytokine production compared to other molecular subtypes of breast cancer. When analyzing the ROC curves, it was found that exceeding the threshold values of the CEA influence index (II_{CEA}) on the production of TNF- α and G-CSF is characteristic of the luminal B HER2-negative subtype. In the luminal B HER2 positive subtype, the following thresholds were exceeded: CEA of induced IL-6, IL-8, TNF- α and MCP-1 products; as well as II_{CEA} for IL-1Ra products. The HER2 positive subtype corresponded to exceeding the thresholds: spontaneous production of IL-8, G-CSF and MCP-1; CEA and II_{CEA} for GM-CSF products. The triple negative subtype was characterized by an increase in II_{CEA} thresholds for IL-8 products.

Conclusion. The determination of CEA-induced cytokine production by blood cells in patients with breast cancer makes it possible to identify molecular subtypes with an unfavorable outcome, in particular triple negative and HER2 positive subtypes even before surgery.

Keywords: breast cancer, carcinoembryonic antigen, blood cells, cytokines, molecular subtypes

For citation: Studenikina AA, Ryzhikova SL, Proskura AV, Autenshlyus AI. The effect of carcinoembryonic antigen on cytokine production in breast cancer patients. *Meditsinskiy Sovet.* 2025;19(10):128–135. (In Russ.) <https://doi.org/10.21518/ms2025-118>.

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Распределение пациенток по пяти молекулярным подтипам дает возможность прогнозировать злокачественную прогрессию рака молочной железы (РМЖ) [1, 2] и используется врачами-онкологами в качестве ориентира для назначения лечения, включая гормональную, анти-HER2 и цитотоксическую терапию [3].

В последние годы уделяется пристальное внимание связи онкомаркеров с клинико-патологическими признаками, в том числе с молекулярными подтипами опухоли [4]. Одним из онкомаркеров, связанных с прогнозом РМЖ, является карциноэмбриональный антиген (CEA) – гликопротеин, участвующий в клеточной адгезии. Уровень CEA может быть повышен при многих видах рака [5] и широко используется для мониторинга лечения, оценки вероятности рецидива и метастазирования РМЖ [6], тем не менее, CEA не используется в диагностике и скрининге РМЖ из-за низкой чувствительности и специфичности [7]. Кроме того, в работе M. Lian et al. было обнаружено, что у пациенток с тройным негативным подтипом РМЖ был самый низкий уровень CEA по сравнению с другими молекулярными подтипами, при этом авторы отмечают, что уровень CEA имеет низкую диагностическую точность при ранней стадии РМЖ (стадии I–III) [6]. Имеются данные, свидетельствующие о том, что возраст, размер опухоли и статус HER2 были независимыми факторами, связанными с уровнем CEA [4], в частности, у пациенток с положительным статусом рецептора эпидермального фактора роста человека 2 (HER2) был повышен уровень CEA [8].

Согласно литературным данным, а также собственным наблюдениям уровень цитокинов – небольших сигнальных молекул, может значительно варьировать в зависимости от молекулярного подтипа РМЖ [9–11]. В связи с этим представляет интерес изменение цитокинового профиля под действием CEA при различных молекулярных подтипах РМЖ.

Таким образом, **целью** работы была оценка влияния CEA на продукцию цитокинов лейкоцитами крови у пациенток с РМЖ при различных молекулярных подтипах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовали образцы периферической крови 109 женщин с РМЖ с гистологическим типом – инвазивная карцинома неспецифического типа в возрасте от 25 до 85 лет, средний возраст 59 лет, находившихся на лечении в маммологическом отделении Городской клинической больницы №1 г. Новосибирска. Критерии включения: отсутствие неоадьювантной терапии до взятия материала на исследование. Критерии исключения: острые и хронические инфекционные заболевания, онкологические заболевания другой локализации, наличие очагов отдаленного метастазирования. Все исследования проводили в соответствии с принципами, изложенными в Хельсинкской декларации. Все пациентки прочитали и подписали информированное согласие на проведение исследований, одобренное этическим комитетом НИИМББ ФИЦ ФТМ (протокол №28 от 27.09.2023). Подробная характеристика пациенток и разделение пациенток на 5 групп согласно молекулярно-генетическому подтипу опухоли представлена в *табл. 1*.

Образцы крови объемом 1 мл инкубировали при 37 °C в течение суток в 4 мл среды DMEM, содержащей гепарин, гентамицин и L-глутамин, – для определения спонтанной продукции цитокинов (флакон 1). Параллельно инкубировались в тех же условиях 980 мкл разбавленной крови из флакона 1 с 20 мкл CEA производства «Calbiochem», Германия, – для определения CEA индуцированной продукции цитокинов. После инкубации проводили центрифугирование содержимого обоих флаконов в течение 15 мин при 900 g. В отобранной надосадочной жидкости (супернатантах) определяли концентрации: IL-1 β , IL-1Ra, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, TNF- α , IFN- γ , G-CSF, GM-CSF, VEGF

- **Таблица 1.** Клинико-морфологическая характеристика опухолей пациенток с раком молочной железы
- **Table 1.** Clinical and morphological characteristics of tumors in patients with breast cancer

Параметр	Значение
Размер опухоли, см	<2 (48; 44%) ≥2 (61; 56%)
Степень вовлеченности лимфатических узлов, N	0 (66; 60%) 1 (34; 31%) 2 (5; 5%) 3 (4; 4%)
Степень дифференцировки, G	I (4; 4%) II (103; 94%) III (2; 2%)
Эстрогеновые рецепторы	есть (84; 77%) нет (25; 23%)
Прогестероновые рецепторы	есть (74; 68%) нет (35; 32%)
Рецептор эпидермального фактора роста 2 (HER2)	есть (53; 49%) нет (56; 51%)
Уровень Ki67	29,4 % (5 - 95)
Молекулярные подтипы	
1-я группа - ЛюмА	Люминальный А (41; 38%)
2-я группа - ЛюмВ-	Люминальный В HER2-негативный (19; 17%)
3-я группа - ЛюмВ+	Люминальный В HER2-позитивный (24; 22%)
4-я группа - HER2+	HER2-позитивный нелюминальный (10; 9%)
5-я группа - ТН	Тройной негативный (15; 14%)

Примечание. Описание распространенности параметров дано в формате (N; P), где N – число пациенток, имеющих заданное значение параметра, P – процентная доля числа пациенток с заданным значением параметра относительно всей выборки.

и MCP-1, используя наборы для иммуноферментного анализа АО «Вектор-Бест», Россия. Оценка влияния СЕА на продукцию цитокинов проводилась путем расчета индекса влияния (IV_{CEA}), который представляет собой отношение продукции цитокина после инкубации с СЕА к спонтанной продукции цитокина и выражается в условных единицах (у.е.) [12].

Результаты исследования были обработаны в SPSS 22. Использовались критерии Краскела – Уоллиса при сравнении нескольких групп и Манна – Уитни при попарном сравнении групп. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Данные представлены в таблицах в виде медианы (Me) интерквартильного размаха ($Q_1 - Q_3$). Диагностическую ценность изучаемых параметров определяли путем построения ROC-кривой с последующей оценкой площади под ней. Разделяющее значение количественного признака в точке cut-off определялось по наивысшему значению индекса Юдена.

РЕЗУЛЬТАТЫ

При использовании Н-критерия Краскела – Уоллиса, позволяющего в принципе определить, изменяются ли концентрации цитокинов при сравнении 5 групп пациенток, оказалось, что пациентки с разными молекулярными подтипами статистически значимо отличались

по спонтанной продукции цитокинов клетками крови по всем 5 группам: IL6 ($p = 0,023$), IL-8 ($p = 0,001$), IL-18 ($p = 0,027$), TNF- α ($p = 0,008$) и MCP-1 ($p = 0,012$). После чего, при попарном сравнении с помощью U-критерия Манна – Уитни были определены особенности цитокинового профиля супернатантов клеток крови, присущих каждому конкретному молекулярному подтипу (табл. 2).

Примечательно, что наиболее высокие концентрации цитокинов в супернатантах клеток крови были у пациенток с HER2-позитивным нелюминальным и люминальным В HER2-позитивным подтипами. В частности, в этих группах концентрации IL-6, TNF- α и G-CSF были статистически значимо выше по сравнению с люминальным А подтипом. При этом концентрации IL-8 и MCP-1 при HER2-позитивном нелюминальном и люминальном В HER2-позитивном подтипах были выше по сравнению с остальными молекулярными подтипами. Что касается группы пациентов с тройным негативным подтипом, то концентрации IL-1Ra и VEGF были статистически значимо выше по сравнению с люминальным В HER2-позитивным, а концентрации IL-18 были выше по сравнению как с HER2-позитивным нелюминальным, так и с люминальным В HER2-позитивным подтипами.

Что касается индуцированной СЕА продукции цитокинов в супернатанте клеток крови, результаты определения Н-критерия Краскела – Уоллиса показали, что группы пациенток с разными молекулярными подтипами статистически значимо различались только по IL-6 ($p = 0,007$), IL-8 ($p = 0,006$), TNF- α ($p = 0,008$) и GM-CSF ($p = 0,005$). Показатели индуцированной СЕА продукции цитокинов в супернатанте лейкоцитов крови с использованием U-критерия Манна – Уитни в зависимости от молекулярного подтипа опухоли представлены в табл. 3.

Установлено, что наиболее высокими показателями СЕА индуцированной продукции цитокинов характеризуется люминальный HER2-позитивный подтип. СЕА индуцированная продукция IL-6 и IL-8 при этом подтипе была статистически значимо выше по сравнению с тремя молекулярными подтипами, а именно с люминальным А, люминальным HER2-негативным и тройным негативным (табл. 4). Кроме того, при люминальном В HER2-позитивном подтипе СЕА индуцированная продукция TNF- α , G-CSF и MCP-1 была выше по сравнению с люминальным А. При тройном негативном подтипе отмечалось повышение СЕА индуцированной продукции IL-18 по сравнению с люминальным А и люминальным В HER2-позитивным подтипами (табл. 4).

Для люминального В HER2-позитивного подтипа был характерен более высокий IV_{CEA} на продукцию IL-6 и IL-1Ra по сравнению с люминальным А; IL-8 по сравнению с люминальным В HER2-негативным. HER2-позитивный нелюминальный подтип отличался статистически значимо более высоким IV_{CEA} на продукцию GM-CSF по сравнению с люминальным В HER2-негативным подтипом.

Представленные выше данные позволяют предположить, что по уровню спонтанной, СЕА стимулированной и IV_{CEA} продукции цитокинов пациенток с РМЖ можно оценить вероятность принадлежности пациентки к тому или иному

● **Таблица 2.** Спонтанная продукция цитокинов клетками крови пациенток с раком молочной железы (пг/мл) в зависимости от молекулярного подтипа опухоли

● **Table 2.** Spontaneous cytokine production by blood cells of patients with breast cancer (pg/ml) depending on the molecular subtype of the tumor

Цитокины	1-я группа ЛюмА	2-я группа ЛюмВ-	3-я группа ЛюмВ+	4-я группа HER2+	5-я группа ТН
Me ($Q_1 - Q_3$)					
IL-6	83,6 (50,0–177,9)	63,1 (22,9–358,0)	200,1 (73,4–600,8)	306,7 (86,9–727,6)	123,2 (73,6–242,6)
	$p_{1-3} = 0,007$			$p_{1-4} = 0,020$	
IL-8	470,0 (320,4–822,5)	326,1 (182,2–427,0)	658,0 (374,3–2345,0)	1857,5 (617,9–5572,5)	335,1 (282,4–659,4)
	$p_{1-2} = 0,020$	$p_{2-4} = 0,002$	$p_{2-3} = 0,002$	$p_{1-4} = 0,012$	$p_{4-5} = 0,009$
IL-18	26,8 (21,3–34,8)	32,4 (25,4–45,8)	24,6 (17,9–31,9)	23,6 (21,9–30,9)	31,2 (29,3–38,6)
		$p_{2-3} = 0,020$	$p_{3-5} = 0,009$	$p_{4-5} = 0,023$	
IL-1Ra	1159,9 (549,2–1933,7)	1108,0 (809,6–2345,3)	778,2 (529,4–1239,5)	1479,0 (971,9–2157,7)	1818,5 (872,6–2375,1)
			$p_{3-5} = 0,029$		
TNF- α	2,0 (1,0–12,0)	5,0 (2,0–14,9)	12,1 (3,8–29,7)	13,9 (5,6–50,3)	6,6 (1,6–9,5)
	$p_{1-3} = 0,002$			$p_{1-4} = 0,013$	
G-CSF	6,2 (2,0–16,1)	3,7 (2,0–39,0)	18,0 (2,9–51,2)	34,1 (14,0–97,7)	13,1 (2,2–46,3)
	$p_{1-3} = 0,041$			$p_{1-4} = 0,004$	
GM-CSF	2,0 (2,0–2,9)	2,0 (2,0–8,9)	3,3 (2,0–8,6)	6,5 (2,0–14,1)	4,2 (2,0–10,0)
	$p_{1-4} = 0,033$				$p_{1-5} = 0,025$
VEGF	53,9 (36,0–76,4)	48,5 (24,8–90,9)	42,0 (17,8–75,6)	57,0 (40,9–97,9)	79,0 (37,3–107,3)
			$p_{3-5} = 0,039$		
MCP-1	1680,0 (1065,5–2842,5)	1378,0 (441,6–1765,8)	2940,6 (1116,3–7046,6)	9576,5 (2235,5–12678,8)	1592,0 (469,7–2867,0)
	$p_{1-4} = 0,015$	$p_{2-3} = 0,026$			

Примечание. В табл. 2–4 представлены цитокины, по которым отмечались статистически значимые различия. 1-я группа – люминальный А; 2-я группа – люминальный В HER2-негативный; 3-я группа – люминальный В HER2-позитивный; 4-я группа – HER2-позитивный нелюминальный; 5-я группа – тройной негативный молекулярный подтип.

молекулярному подтипу. Для проверки этого предположения был проведен ROC-анализ полученных данных (табл. 5).

При анализе ROC-кривых было установлено, что превышение пороговых значений (точек отсечения) спонтанной продукции IL-8, G-CSF и MCP-1; CEA и ИВ_{CEA} на продукцию клетками крови GM-CSF соответствовало HER2-позитивному нелюминальному подтипу и обладало хорошим качеством модели (табл. 5). При люминальном В HER2-позитивном подтипе было характерно превышение пороговых значений CEA индуцированной продукции цитокинов IL-6, IL-8, TNF- α и MCP-1; а также ИВ_{CEA} на продукцию IL-1Ra. Превышение пороговых значений ИВ_{CEA} на продукцию TNF- α и G-CSF отличало люминальный В HER2-негативный подтип. Тройной негативный молекулярный подтип характеризовался только увеличением пороговых значений ИВ_{CEA} на продукцию IL-8.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время непрерывно ведется поиск новых прогностических маркеров для улучшения показателей выживаемости пациенток с РМЖ и все большее количество

молекул рассматриваются исследователями для этой цели. Предполагается, что опухоли продуцируют CEA для усиления пролиферации и миграция клеток [13, 14]. Европейская группа по онкомаркерам рекомендовала использовать CEA в качестве вспомогательного инструмента для оценки состояния пациенток, раннего выявления прогрессирования опухоли и выбора терапевтических методов при РМЖ [15]. Напротив, Американское общество клинической онкологии (ASCO) не рекомендует использовать CEA для скрининга, наблюдения за пациентками и выборе схем лечения РМЖ, в связи с недостаточной чувствительностью этого маркера [16]. Имеется несколько исследований, демонстрирующих взаимосвязь между уровнем CEA в крови и молекулярными подтипами РМЖ [4, 8]. Известно, что цитокины способны оказывать существенное влияние как на иммунную систему, так и на микроокружение опухоли [17], а их концентрации вероятно могут значительно варьироваться в зависимости от молекулярного подтипа опухоли [9–11]. Поэтому мы изменили подход к методике использования CEA при РМЖ.

Согласно проведенному исследованию пациентки с люминальным А молекулярным подтипом значительно

● **Таблица 3.** CEA индуцированная продукция цитокинов клетками крови пациенток с раком молочной железы (пг/мл) в зависимости от молекулярного подтипа опухоли

● **Table 3.** CEA induced cytokine production by blood cells of patients with breast cancer (pg/ml) depending on the molecular subtype of the tumor

Цитокины	1-я группа ЛюмА	2-я группа ЛюмВ-	3-я группа ЛюмВ+	4-я группа HER2+	5-я группа ТН
Me ($Q_1 - Q_3$)					
IL-6	361,3 (165,6–1895,0)	401,8 (316,8–506,8)	5717,5 (867,2–10661,1)	930,0 (407,9–10631,3)	355,9 (300,1–1050,0)
	p₁₋₃ = 0,002	p₂₋₃ = 0,007			p₃₋₅ = 0,028
IL-8	2250,0 (388,7–6825,0)	486,1 (324,8–2423,3)	8375,0 (3112,5–19112,5)	5825,0 (584,3–11362,5)	677,7 (451,7–11550,0)
	p₁₋₃ = 0,013	p₂₋₃ = 0,0007			p₃₋₅ = 0,026
IL-18	28,2 (20,6–32,6)	33,1 (24,6–35,8)	29,0 (23,0–37,8)	31,5 (24,1–66,8)	35,6 (32,6–50,6)
	p₁₋₅ = 0,004				p₃₋₅ = 0,045
TNF-α	27,7 (7,3–102,7)	61,9 (25,7–140,6)	139,3 (52,9–312,0)	84,3 (43,1–306,5)	122,0 (32,3–216,2)
	p₁₋₃ = 0,001			p₁₋₄ = 0,037	
G-CSF	75,4 (31,7–266,5)	135,9 (35,7–487,2)	304,7 (128,7–812,5)	223,4 (76,4–545,5)	84,4 (48,4–475,0)
	p₁₋₃ = 0,006				
GM-CSF	8,6 (3,1–41,6)	12,9 (4,2–23,6)	23,4 (11,6–74,4)	52,5 (26,4–133,9)	20,3 (6,8–41,0)
	p₁₋₃ = 0,012	p₂₋₄ = 0,003	p₂₋₃ = 0,024	p₁₋₄ = 0,005	
VEGF	126,5 (74,2–165,5)	72,4 (38,7–112,4)	99,6 (63,4–141,8)	115,5 (52,8–125,0)	115,1 (61,3–130,1)
	p₁₋₂ = 0,035				
MCP-1	1534,6 (794,9–2568,3)	1650,2 (868,3–2053,5)	3596,6 (1636,2–7361,4)	2406,5 (1312,5–5319,7)	1624,8 (922,4–2958,0)
	p₁₋₃ = 0,012	p₂₋₃ = 0,012			

● **Таблица 4.** Индекс влияния CEA на продукцию цитокинов клетками крови пациенток с раком молочной железы (у.е.) в зависимости от молекулярного подтипа опухоли

● **Table 4.** Index of the effect of CEA on cytokine production by blood cells of patients with breast cancer (CU) depending on the molecular subtype of the tumor

Цитокины	1-я группа ЛюмА	2-я группа ЛюмВ-	3-я группа ЛюмВ+	4-я группа HER2+	5-я группа ТН	p
Me ($Q_1 - Q_3$)						
IL-6	3,7 (1,1–14,8)	5,4 (1,1–15,8)	19,9 (4,5–48,8)	7,1 (3,1–16,2)	4,1 (1,3–22,6)	p₁₋₃ = 0,043
IL-8	3,1 (1,3–11,4)	1,7 (1,0–8,1)	4,8 (2,7–22,7)	2,7 (1,4–7,1)	3,5 (1,0–14,9)	p₂₋₃ = 0,014
IL-1Ra	1,6 (0,9–5,2)	3,4 (1,5–4,6)	3,3 (1,5–10,2)	3,6 (0,7–4,5)	1,9 (0,8–5,2)	p₁₋₃ = 0,021
GM-CSF	3,9 (1,4–11,7)	4,0 (1,3–6,7)	6,6 (2,0–26,7)	11,0 (6,4–22,0)	3,0 (1,6–19,7)	p₂₋₄ = 0,010

отличаются от пациенток с другими подтипами более низкими спонтанно-продуцируемыми концентрациями цитокинов в супернатанте клеток крови, особенно по сравнению с пациентками с HER2-позитивными подтипами. Вероятно, это обусловлено как отрицательным влиянием ER на продукцию цитокинов [18], так и наоборот, активацией сигнальных каскадов, запускаемых HER2, которые приводят к увеличению продукции цитокинов при HER2-положительных подтипах [19–21]. Так, в исследовании G. Liu et al. концентрации IL-6 в сыворотке были значительно выше у пациенток с HER2-положительным РМЖ, чем у пациенток с люминальными подтипами [19], что соотносится с нашими данными. Повышенная продукция IL-6

и IL-8 у пациенток без экспрессии рецептора прогестерона обычно указывает на плохой прогноз, одним из признаков которого является прямая корреляция между IL-8 и неоваскуляризацией, что может способствовать распространению метастазов [20]. С. Alfaro показал, что при не-люминальных подтипах РМЖ IL-8 может приводить к усиленной миграции опухолевых клеток за счет активации путей PI3K/Akt и PLC/ПКС [21]. У пациенток с люминальным А подтипом отмечалась более низкая CEA индуцированная продукция TNF-α, G-CSF и MCP-1 по сравнению с пациентками с люминальным В HER2-позитивным подтипом. Была обнаружена интересная закономерность – несмотря на то, что пациентки с люминальным А подтипом

● **Таблица 5.** Результаты анализа кривых ROC продукции цитокинов клетками крови пациенток с раком молочной железы (пг/мл) в зависимости от молекулярного подтипа опухоли

● **Table 5.** The results of the analysis of the ROC curves of cytokine production by blood cells of patients with breast cancer (pg/ml) depending on the molecular subtype of the tumor

Группа подтип	Цитокин	AUC	p	Оптимальная точка отсечения «cut-off»	Чувствительность	Специфичность
СП						
HER2+	G-CSF	0,727	0,019	22,5	70%	76%
	MCP-1	0,732	0,016	2674,5	80%	64%
	IL-8	0,742	0,012	748,0	70%	70%
CEA						
ЛюмВ+	IL-6	0,735	0,002	1385,0	81%	74%
	IL-8	0,715	0,006	6355,0	76%	69%
	TNF- α	0,730	0,003	89,7	71%	69%
	MCP-1	0,724	0,004	1744,3	71%	67%
HER2+	GM-CSF	0,789	0,020	32,4	83%	67%
ИБ_{CEA}						
ЛюмВ-	TNF- α	0,739	0,041	26,9	71%	80%
	G-CSF	0,746	0,035	26,4	86%	73%
ЛюмВ+	IL-1Ra	0,749	0,001	2,2	71%	67%
HER2+	GM-CSF	0,753	0,043	10,5	83%	67%
ТН	IL-8	0,732	0,044	7,6	71%	70%

Примечание. Значения площади под кривой (AUC) 0,9–1 – отличное качество модели; 0,8–0,9 – очень хорошее качество модели; 0,7–0,8 – хорошее качество модели; 0,6–0,7 – среднее качество модели; 0,5–0,6 – неудовлетворительное качество модели. В таблице представлены данные, обладающие хорошим качеством модели.

характеризовались выраженным снижением спонтанной и CEA индуцированной продукции цитокинов, проведенный ROC-анализ не показал никаких пороговых значений продукции цитокинов при этом молекулярном подтипе, обладающих хорошим качеством модели, что может свидетельствовать о гетерогенности в рамках этого молекулярного подтипа. На основании проведенного анализа ROC-кривых был выявлен ряд цитокинов, соответствующих остальным четырем молекулярным подтипам. Например, превышение пороговых значений ИБ_{CEA} на продукцию TNF- α и G-CSF отличало пациенток с люминальным В HER2-негативным подтипом.

У пациенток с люминальным В HER2-позитивным подтипом наблюдается увеличение продукции цитокинов по сравнению с пациентками с HER2-негативными подтипами. Это может свидетельствовать о том, что стимулирующее влияние HER2 на продукцию цитокинов нивелирует эффект отрицательного влияния ER на продукцию цитокинов. Кроме того, исходя из результатов исследования, наиболее высокими показателями CEA индуцированной продукции цитокинов характеризуются пациентки с люминальным В HER2-позитивным подтипом. После воздействия CEA на клетки крови при этом подтипе концентрации IL-6 и IL-8 были выше по сравнению с люминальными А и В HER2-негативным и тройным негативным подтипами. В настоящее время нет исчерпывающей информации

о влиянии CEA на продукцию цитокинов при онкологических заболеваниях, кроме того, имеющиеся данные носят противоречивый характер. Например, совместная культивация клеток карциномы языка с CEA приводила к значительному увеличению продукции IL-8, TGF- β 1 и VEGF, но приводила к снижению TNF- α [22]. Вместе с этим имеются данные о том, что цитокины также влияют на уровень CEA. Так, в исследовании С. Jacqueline после воздействия на нормальные первичные клетки эпителия молочной железы IL-1 β , IL-6 и TNF- α наблюдалась временная сверхэкспрессия CEA и Her-2/neu [23]. Что касается ROC-анализа, то при люминальном В HER2-позитивном подтипе было характерно превышение пороговых значений CEA индуцированной продукции IL-6, IL-8, TNF- α и MCP-1; а также ИБ_{CEA} на продукцию IL-1Ra. HER2-позитивному нелюминальному подтипу соответствовало превышение пороговых значений спонтанной продукции IL-8, G-CSF и MCP-1, а также CEA стимулированной продукции GM-CSF.

Пациентки с тройным негативным подтипом РМЖ, как известно, отличаются наиболее агрессивным течением с худшими показателями выживаемости и высокой частотой рецидивирования [24]. Было обнаружено, что концентрации IL-1Ra и VEGF у пациенток с тройным негативным подтипом статистически значимо выше по сравнению с пациентками с люминальным В HER2-позитивным, а концентрации IL-18 были выше по сравнению

с HER2-позитивным нелюминальным и люминальным В HER2-позитивным подтипами. Согласно исследованию G.K. Gupta et al., IL-18 способен усиливать продукцию VEGF – одного из основных активаторов ангиогенеза, способствующего ускорению пролиферации и опухолевого роста [25], в связи с чем усиление совместной продукции IL-18 и VEGF сопряжено с агрессивным течением РМЖ, что подтверждают полученные нами результаты. Что касается IL-1Ra, то интерпретация полученных данных не столь однозначна, поскольку IL-1Ra известен как противовоспалительный цитокин, блокирующий связывание IL-1 с его целевым рецептором [26], но в недавнем исследовании говорится о том, что IL-1Ra, активируя сигнальный путь Hedgehog, способен усиливать пролиферацию и миграционные свойства опухолевых клеток [27]. Несмотря на это, при проведении ROC-анализа тройной негативный молекулярный подтип характеризовался только увеличением пороговых значений ИВ_{СЕА} на продукцию IL-8, что вероятно связано с тем, что этот цитокин усиливает пролиферацию опухоли, ее ангиогенез и метастазирование, а также способствует множественной лекарственной устойчивости клеток РМЖ [20, 21, 28].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение можно отметить, что определение уровня СЕА-индуцированной продукции цитокинов клетками крови у пациенток с раком молочной железы представляет

собой перспективный метод для раннего выявления молекулярных подтипов опухоли, связанных с неблагоприятным прогнозом. Особенно это актуально для таких подтипов, как тройной негативный и HER2-позитивный нелюминальный, которые характеризуются агрессивным течением и высоким риском рецидива, и могут быть выявлены еще до проведения хирургического вмешательства. Несмотря на то что по национальным и международным рекомендациям молекулярные подтипы должны определяться до операции с использованием иммуногистохимического анализа рецепторов эстрогена, прогестерона, эпидермального фактора роста 2 (HER2) и уровня K167, СЕА-индуцированная продукция цитокинов может служить ценным дополнением к этим методам. Этот подход предоставляет дополнительную информацию о функциональной активности опухоли и уровне активации определенных сигнальных путей, что особенно полезно в ситуациях, когда стандартные иммуногистохимические методы не дают полной картины биологического поведения опухоли или выявляют гетерогенность внутри одного молекулярного подтипа. Таким образом, включение анализа СЕА-индуцированной продукции цитокинов в клиническую практику может существенно повысить точность прогнозирования течения заболевания и способствовать улучшению персонализированного подхода к лечению.



Поступила / Received 13.01.2025
Поступила после рецензирования / Revised 19.04.2025
Принята в печать / Accepted 17.06.2025

Список литературы / References

- Burstein HJ, Curigliano G, Thürlimann B, Weber WP, Poortmans P, Regan MM et al. Customizing local and systemic therapies for women with early breast cancer: the St. Gallen International Consensus Guidelines for treatment of early breast cancer 2021. *Ann Oncol*. 2021;32(10):1216–1235. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2021.06.023>.
- Li Y, Lu S, Zhang Y, Wang S, Liu H. Loco-regional recurrence trend and prognosis in young women with breast cancer according to molecular subtypes: analysis of 1099 cases. *World J Surg Oncol*. 2021;19(1):113. <https://doi.org/10.1186/s12957-021-02214-5>.
- Farshid G, Walters D. Molecular subtypes of screen-detected breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2018;172(1):191–199. <https://doi.org/10.1007/s10549-018-4899-3>.
- Lian M, Zhang C, Zhang D, Chen P, Yang H, Yang Y et al. The association of five preoperative serum tumor markers and pathological features in patients with breast cancer. *J Clin Lab Anal*. 2019;33(5):e22875. <https://doi.org/10.1002/jcla.22875>.
- Seale KN, Tkaczuk KHR. Circulating Biomarkers in Breast Cancer. *Clin Breast Cancer*. 2022;22(3):e319–e331. <https://doi.org/10.1016/j.clbc.2021.09.006>.
- Nam SE, Lim W, Jeong J, Lee S, Choi J, Park H et al. The prognostic significance of preoperative tumor marker (CEA, CA15-3) elevation in breast cancer patients: data from the Korean Breast Cancer Society Registry. *Breast Cancer Res Treat*. 2019;177(3):669–678. <https://doi.org/10.1007/s10549-019-05357-y>.
- Zhang Q, Fang Y, She C, Zheng R, Hong C, Chen C, Wu J. Diagnostic and prognostic significance of SLC50A1 expression in patients with primary early breast cancer. *Exp Ther Med*. 2022;24(4):616. <https://doi.org/10.3892/etm.2022.11553>.
- Zhao W, Li X, Wang W, Chen B, Wang L, Zhang N et al. Association of Preoperative Serum Levels of CEA and CA15-3 with Molecular Subtypes of Breast Cancer. *Dis Markers*. 2021;2021:5529106. <https://doi.org/10.1155/2021/5529106>.
- Bel'skaya LV, Loginova AI, Sarf EA. Pro-Inflammatory and Anti-Inflammatory Salivary Cytokines in Breast Cancer: Relationship with Clinicopathological Characteristics of the Tumor. *Curr Issues Mol Biol*. 2022;44(10):4676–4691. <https://doi.org/10.3390/cimb44100319>.
- Студеникина АА, Перепечаева МЛ, Михайлова ЕС, Вараксин НА, Аутеншлюс АИ. Продукция цитокинов клетками крови и образцами опухоли, и ее сопряженность с экспрессией микроРНК у пациенток с раком молочной железы. *Медицинская иммунология*. 2023;25(6):1407–1416. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-CPB-2647>.
- Студеникина АА, Перепечаева МЛ, Михайлова ЕС, Вараксин НА, Аутеншлюс АИ. Cytokine production by blood cells and tumor samples and its coupling to microRNA expression in breast cancer patients. *Medical Immunology (Russia)*. 2023;25(6):1407–1416. (In Russ.) <https://doi.org/10.15789/1563-0625-CPB-2647>.
- Autenshlyus A, Davletova K, Varaksin N, Marinkin I, Lyakhovich V. Cytokines in various molecular subtypes of breast cancer. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2021;35:20587384211034089. <https://doi.org/10.1177/20587384211034089>.
- Аутеншлюс АИ, Кунц ТА, Карпухина КВ, Михайлова ЕС, Вараксин НА, Маринкин ИО. Влияние раково-эмбрионального антигена на продукцию цитокинов иммунокомпетентными клетками крови у больных с опухолями молочной железы. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018;17(3): 5–12. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2018-3-5-12>.
- Autenshlyus AI, Kunts TA, Karpukhina KV, Mikhailova ES, Varaksin NA, Marinkin IO. The effect of carceroembryonic antigen on cytokine production by immunocompetent blood cells in patients with breast cancer. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2018;17(3):5–12. (In Russ.) <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2018-3-5-12>.
- Hall C, Clarke L, Pal A, Buchwald P, Eglinton T, Wakeman C, Frizelle F. A review of the role of carcinoembryonic antigen in clinical practice. *Ann Coloproctol*. 2019;35(6):294–305. <https://doi.org/10.3393/ac.2019.11.13>.
- Wirth T, Soeth E, Czubyko F, Juhl H. Inhibition of endogenous carcinoembryonic antigen (CEA) increases the apoptotic rate of colon cancer cells and inhibits metastatic tumor growth. *Clin Exp Metastasis*. 2002;19(2):155–160. <https://doi.org/10.1023/A:1014566127493>.
- Molina R, Barak V, van Dalen A, Duffy MJ, Einarsson R, Gion M et al. Tumor markers in breast cancer – European group on tumor markers recommendations. *Tumour Biol*. 2005;26(2):281–293. <https://doi.org/10.1159/000089260>.
- Harris L, Fritsche H, Mennel R, Norton L, Ravdin P, Taube S et al. American Society of Clinical Oncology 2007 update of recommendations for the use of tumor markers in breast cancer. *J Clin Oncol*. 2007;25(33):5287–5312. <https://doi.org/10.1200/JCO.2007.14.2364>.
- King J, Mir H, Singh S. Association of Cytokines and Chemokines in Pathogenesis of Breast Cancer. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 2017;151:113–136. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2017.07.003>.

18. Abramenko N, Vellieux F, Tesařová P, Kejik Z, Kaplánek R, Laciná L et al. Estrogen Receptor Modulators in Viral Infections Such as SARS-CoV-2: Therapeutic Consequences. *Int J Mol Sci.* 2021;22(12):6551. <https://doi.org/10.3390/ijms22126551>.
19. Liu G, Chen XT, Zhang H, Chen X. Expression analysis of cytokines IL-5, IL-6, IL-8, IL-17 and VEGF in breast cancer patients. *Front Oncol.* 2022;12:1019247. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.1019247>.
20. Yin J, Zeng F, Wu N, Kang K, Yang Z, Yang H. Interleukin-8 promotes human ovarian cancer cell migration by epithelial-mesenchymal transition induction in vitro. *Clin Transl Oncol.* 2015;17(5):365–370. <https://doi.org/10.1007/s12094-014-1240-4>.
21. Alfaro C, Suárez N, Martínez-Forero I, Palazón A, Rouzaut A, Solano S et al. Carcinoma-derived interleukin-8 disorients dendritic cell migration without impairing T-cell stimulation. *PLoS ONE.* 2011;6(3):e17922. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017922>.
22. Wang N, Wang Q, Chi J, Xiang F, Lin M, Wang W, Wei F, Feng Y. Carcinoembryonic antigen cell adhesion molecule 1 inhibits the antitumor effect of neutrophils in tongue squamous cell carcinoma. *Cancer Sci.* 2019;110(2):519–529. <https://doi.org/10.1111/cas.13909>.
23. Jacqueline C, Lee A, Frey N, Minden JS, Finn OJ. Inflammation-Induced Abnormal Expression of Self-molecules on Epithelial Cells: Targets for Tumor Immunoprevention. *Cancer Immunol Res.* 2020;8(8):1027–1038. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-19-0870>.
24. Gupta GK, Collier AL, Lee D, Hofer RA, Zheleva V, Siewertz van Reesema LL et al. Perspectives on Triple-Negative Breast Cancer: Current Treatment Strategies, Unmet Needs, and Potential Targets for Future Therapies. *Cancers.* 2020;12(9):2392. <https://doi.org/10.3390/cancers12092392>.
25. Baker KJ, Houston A, Brint E. IL-1 Family Members in Cancer; Two Sides to Every Story. *Front Immunol.* 2019;10:1197. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01197>.
26. Ma J, Sun X, Guo T, Su H, Chen Q, Gong Z et al. Interleukin-1 receptor antagonist inhibits angiogenesis via blockage IL-1 α /PI3K/NF- κ B pathway in human colon cancer cell. *Cancer Manag Res.* 2017;9:481–493. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S147699>.
27. Wang W, Liu Y, Guo J, He H, Mi X, Chen C et al. miR-100 maintains phenotype of tumor-associated macrophages by targeting mTOR to promote tumor metastasis via Stat5 α /IL-1 α pathway in mouse breast cancer. *Oncogenesis.* 2018;7(12):97. <https://doi.org/10.1038/s41389-018-0106-y>.
28. Messeha SS, Zarmouh NO, Mendonca P, Cotton C, Soliman KFA. Molecular mechanism of gossypol mediating CCL2 and IL-8 attenuation in triple-negative breast cancer cells. *Mol Med Rep.* 2020;22(2):1213–1226. <https://doi.org/10.3892/mmr.2020.11240>.

Вклад авторов:

Концепция и дизайн исследования – А.И. Аутеншлюс, А.А. Студеникина
Сбор и обработка материала – С.Л. Рыжикова, А.В. Проскура
Статистическая обработка – А.А. Студеникина
Написание текста – А.А. Студеникина
Редактирование – А.И. Аутеншлюс, А.А. Студеникина

Contribution of authors:

Study concept and design – Alexander I. Autenshlyus, Anastasiia A. Studenikina
Collection and processing of material – Svetlana L. Ryzhikova, Andrey V. Proskura
Statistical processing – Anastasiia A. Studenikina
Text development – Anastasiia A. Studenikina
Editing – Alexander I. Autenshlyus, Anastasiia A. Studenikina

Информация об авторах:

Студеникина Анастасия Александровна, к.м.н., научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории, Новосибирский государственный медицинский университет; 630091, Россия, Новосибирск, Красный проспект, д. 52; научный сотрудник, Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины; 630060, Россия, Новосибирск, ул. Тимакова, д. 2/12; aastudenikina@frcftm.ru

Рыжикова Светлана Леонидовна, начальник лаборатории цитокинов, Вектор-Бест; 630559, Россия, Новосибирская область, р. п. Кольцово, Научно-производственная зона, корпус 36; ryzhikova@vector-best.ru

Проскура Андрей Викторович, к.м.н., научный сотрудник, Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины; 630060, Россия, Новосибирск, ул. Тимакова, д. 2/12; pravdok52@gmail.com

Аутеншлюс Александр Исаевич, д.б.н., профессор, заведующий центральной научно-исследовательской лаборатории, Новосибирский государственный медицинский университет; 630091, Россия, Новосибирск, Красный проспект, д. 52; главный научный сотрудник, Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики Федерального исследовательского центра фундаментальной и трансляционной медицины; 630060, Россия, Новосибирск, ул. Тимакова, д. 2/12; lciiip@211.ru

Information about the authors:

Anastasiia A. Studenikina, Cand. Sci. (Med.), Novosibirsk State Medical University; 52, Krasny Ave., Novosibirsk, 630091, Russia; Scientist, Institute of Molecular Biology and Biophysics of Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine; 2/12, Timakov St., Novosibirsk, 630060, Russia; aastudenikina@frcftm.ru

Svetlana L. Ryzhikova, Head of the Cytokine Laboratory, Vector-Best; 36, Scientific and Production Zone, Koltsovo, Novosibirsk Region, 630559, Russia; ryzhikova@vector-best.ru

Andrey V. Proskura, Cand. Sci. (Med.), Scientist, Institute of Molecular Biology and Biophysics of Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine; 2/12, Timakov St., Novosibirsk, 630060, Russia; pravdok52@gmail.com

Alexander I. Autenshlyus, Dr. Sci. (BioL), Professor, Head of the Central Research Laboratory, Novosibirsk State Medical University; 52, Krasny Ave., Novosibirsk, 630091, Russia; Chief Scientist, Institute of Molecular Biology and Biophysics of Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine; 2/12, Timakov St., Novosibirsk, 630060, Russia; lciiip@211.ru