

Каталитическая активность сывороток и иммуноглобулинов классов G и A у пациенток с новообразованиями молочной железы

С.В. Жерулик, Н.Г. Луд, И.И. Генералов

Витебский государственный медицинский университет, Витебск

Catalytic activity of serum and immunoglobulins of classes G and A in patients with breast cancer

S.V. Zherulik, N.G. Lud, I.I. Generalov

Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Belarus

Аннотация

Целью настоящего исследования стало изучение ДНКазной, различных видов протеолитической и оксидоредуктазной сывороточной и абзимной активности, а также сывороточного содержания свободной ДНК у пациенток с опухолями молочной железы в соответствии с клиническими, патологоанатомическими и иммуногистохимическими характеристиками опухолей.

Выявлено, что выделенные из сыворотки крови пациенток с онкопатологией молочной железы каталитические антитела проявляют протеолитическую, ДНКазную и оксидоредуктазную активность, которая варьирует в зависимости от особенностей течения заболевания. При этом удельная каталитическая активность IgA (на единицу концентрации) может на 1-2 порядка превышать аналогичную активность IgG.

ДНКазная, протеолитическая (катепсин G, катепсин B) сывороточная ферментативная активность и катепсиноподобная активность IgG и IgA в отношении субстрата катепсина G отличаются у пациенток со злокачественными и доброкачественными опухолями молочной железы и у здоровых лиц. Данные показатели связаны с распространенностью опухолевого процесса, зависят от гистологических и иммуногистохимических характеристик опухоли и от вероятности ее прогрессирования. В частности, прогрессирование опухолевого процесса сопровождается повышением активности сывороточных ДНКазы и катепсина B, снижением концентрации сывороточной ДНК, а также изменением нуклеазной, протеолитической и оксидоредуктазной активности IgG и IgA.

Ключевые слова

Рак молочной железы, абзимы, ферментативная сывороточная активность, свободная сывороточная ДНК, ДНКазы, БАПНА-амидаза, катепсин G, катепсин B, каталаза, пероксидаза.

Summary

The objective of this study was to investigate DNase, various types of proteolytic and oxidoreductase serum and abzyme activities, as well as the serum contents of free DNA in patients with breast tumors in accordance with the clinical, pathological and immunohistochemical characteristics of the tumors. It was found that catalytic antibodies isolated from blood serum of patients with breast oncopathology exhibit proteolytic, DNase and oxidoreductase activity, which varies depending on the course of the disease. It is worth noting that catalytic activity of IgAs (per unit of Ig concentration) can be 1-2 orders of magnitude higher than the analogous activity of IgGs.

It was found that DNase, proteolytic (cathepsin G, cathepsin B) serum enzymatic activities and cathepsin G-like activity of IgG and IgA differ in patients with malignant and benign breast tumors and in healthy individuals. These parameters depend on the advance of the tumor process, histological and immunohistochemical characteristics of the tumor, as well as on the probability of tumor progression. In particular, the progression of the tumor process is accompanied by an increase of the activity of serum DNase and cathepsin B, decline of the concentration of patients' serum DNA, being also followed by marked changes of the nuclease, proteolytic and oxidoreductase activity of IgG and IgA.

Keywords

Breast cancer, abzymes, enzymatic serum activity, free serum DNA, DNase, BAPNA-amidase, cathepsin G, cathepsin B, catalase, peroxidase

Введение

Антитела (АТ) с природной каталитической активностью (или абзимы) регулярно обнаруживаются в иммунном репертуаре как при физиологических, так и при патологических состояниях [1]. Абзимная активность продемонстрирована при аутоиммунной и аллергической патологии (ревматические заболевания, бронхиальная астма и мн. др. [2-6]), а также при различных бактериальных и вирусных инфекционных процессах [3, 7, 8]. В частности, нуклеазная активность каталитических АТ обнаружена при системной красной волчанке (СКВ) [3, 9, 10] и заболеваниях щитовидной железы, что позволяет использовать этот показатель для дифференциальной диагностики аутоиммунного тиреоидита [11]. Супероксиддисмутазная активность IgG может применяться в лабораторной диагностике псориаза [12, 13]. Активность IgG-протеаз при рассеянном склерозе коррелирует со степенью демиелинизации нервных волокон и с тяжестью состояния по шкале EDSS (Expanded Disability Status Scale) [14]. Также было выявлено участие абзимов в патогенезе и клинических проявлениях сахарного диабета 1 типа [15]. Различные виды активности каталитических IgG установлены при вирусном гепатите С, кишечных инфекциях (сальмонеллезах, шигеллезах), хламидийной инфекции, гнойных бактериальных инфекциях [16-18]. Эскулиназная активность и способность IgG разрушать бактериальную биопленку изменяются с развитием гнойно-воспалительных осложнений у хирургических пациентов [19]. Повышение уровня IgG с активностью сериновых протеаз коррелирует с увеличением выживаемости пациентов при сепсисе, что, как предполагается, связано с менее тяжелым течением ДВС-синдрома [20]. В недавних работах показано, что поликлональные IgG из сыворотки пациентов с шизофренией обладают ДНКазной и протеолитической активностью (гидролизуют гистоны [21]). ДНКазная активность каталитических антител также изучалась при аутоиммунном миокардите и аутоиммунном увеите [22].

Таким образом, диапазон каталитической активности иммуноглобулинов (ИГ) в норме и при патологии является весьма широким.

Существуют отдельные работы, указывающие на наличие абзимной активности при онкопатологии. Обнаружены IgG с ДНКазной активностью при раке толстого кишечника, желудка, легких, щитовидной железы [3, 16]. БАПНА-амидазная активность АТ выявлена при раке желудка. Так как протеазы играют ведущую роль

в процессах опухолевой инвазии и метастазирования, не исключается возможное участие в них абзимов с протеолитической активностью. В нескольких исследованиях отмечалась ДНКазная и пептидазная активность в белках Бенс-Джонса [23]. Показана ДНК-гидролизующая активность IgG при лимфопролиферативных заболеваниях (лимфомах различного происхождения, хроническом лимфолейкозе) [24]. В наших предварительных исследованиях выявлено наличие протеолитической, нуклеазной и оксидоредуктазной активности IgG при раке молочной железы [25].

В отличие от каталитических IgG абзимная активность АТ класса А остается малоизученной. В первоначальных исследованиях определяли каталитическую активность sIgA в грудном молоке и других биологических секретах. Установлена обратная зависимость между частотой развития опухолей молочной железы и РНКазной активностью sIgA в грудном молоке [26]. Собственная ДНКазная, пероксидазная, каталазная, катепсиноподобная и эластазная активность sIgA ротовой жидкости обнаружена при хроническом периодонтите [27].

Изучению активности сывороточных IgA посвящены единичные работы. Существуют указания на нуклеазную и протеолитическую активность IgA здоровых лиц [28], а также пациентов с рассеянным склерозом [29]. Установлена способность сывороточных и секреторных IgA расщеплять протеин gp120 вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) [30].

В Республике Беларусь злокачественные новообразования молочной железы находятся на первом месте по заболеваемости среди всех онкологических заболеваний у женщин [31]. Смертность от данной патологии сокращается только в небольшой группе стран, где современные методы диагностики позволяют выявить заболевание на ранней стадии и провести эффективное и в то же время щадящее лечение, оказывая минимальное влияние на состояние других органов и систем.

С начала XX века активно обсуждается теория влияния системы иммунитета на развитие различных опухолей, в том числе рака молочной железы [32]. Развитие злокачественного процесса во многом определяется взаимодействием пула опухолевых и иммунокомпетентных клеток. У носителей опухоли выявляются антитела и сенсibilизированные лимфоциты, специфично реагирующие с аутологичными опухоль-ассоциированными антигенами. Выживаемость больных нередко коррелирует с показателями системы иммунитета, а специфическая и неспецифическая иммуностимуляция в ряде случаев угнетает рост опухолей [33].

Также известно, что опухоли способны выделять в системный кровоток фрагменты ДНК, которая может быть извлечена из сыворотки и плазмы и использоваться в качестве источника опухолевой ДНК [34]. При помощи методов секвенирования следующего поколения (next generation sequencing – NGS) и полногеномного секвенирования (whole genome sequencing – WGS) возможно определение опухолевых ассоциированных фрагментов ДНК, позволяющих оценить молекулярно-генетические характеристики опухоли и причины клинической резистентности опухоли к терапии. Недавние исследования сообщают об увеличении уровня циркулирующей ДНК у пациентов с различными типами рака, таких как рак предстательной, молочной железы, ободочной и прямой кишки. Предполагается, что уровень свободной ДНК имеет прогностическое значение при этих заболеваниях [35, 36].

Причинами изменений концентрации циркулирующей сывороточной ДНК могут быть усиление цитолиза опухолевых клеток, а также колебания нуклеазной активности сыворотки крови и/или каталитических антител. Существуют работы, показывающие, что ДНКазная активность сыворотки может быть использована как диагностический маркер при обнаружении злокачественных опухолей, а также при мониторинге эффективности лечения, раннем выявлении рецидивов и метастазирования [37-39].

Протеолитическая активность сывороточных и нейтрофильных ферментов также играет значимую роль в индукции и прогрессии злокачественного процесса. Так, например, повышение экспрессии катепсина С (высококонсервативной лизосомальной цистеин-дипептидиламинопептидазы) наблюдалось в различных тканях в процессе канцерогенеза и коррелировало с метастазированием и плохой выживаемостью пациентов [40]. Недавние исследования показали взаимодействие связанных с опухолью катепсина С, нейтрофильных сериновых протеаз и нейтрофильных внеклеточных ловушек в развитии и метастазировании рака [41].

Катепсин G участвует в прогрессировании и метастазировании опухолей [42]. В частности, было выявлено, что активность катепсина G на границе «опухоль-кость» играет важную роль в остеолитическом процессе, вызванном опухолью молочной железы, и что в связи с этим катепсин G является потенциально новой терапевтической мишенью при лечении метастазов рака молочной железы в кости. С другой стороны, катепсин G, экспрессируемый на поверхности нейтрофилов, взаимодействует с RAGE (receptor for advanced glycation

end products) опухолевых клеток и необходим для цитотоксичности нейтрофилов [43]. Активность сывороточного катепсина В изучалась при колоректальном раке, где выявлена ее зависимость от размера опухоли и поражения лимфатических узлов [44]. При раке предстательной железы показано повышение сывороточного катепсина В, которое можно использовать в качестве нового предиктора распространенности заболевания [45]. Активность катепсина В имеет прогностическую значимость и при раке пищевода [46]. Была выявлена потенциальная прогностическая ценность катепсинов В, Н, X и цистатина С в качестве биомаркеров при воспалительном раке молочной железы [47].

Нарушения в антиоксидантной системе организма также играют важную роль в развитии различных патологий, в том числе злокачественных опухолей. Оксидантные и антиоксидантные показатели, такие как сывороточный уровень малонового диальдегида (МДА) и каталитическая активность каталазы, исследовались при раке яичников [48]. Каталитическая активность сыворотки крови изучалась при раке мочевого пузыря [49], почечноклеточном [50] и колоректальном раке [51].

Абзимная активность составляет значимую долю в общей ферментативной сывороточной активности [52]. Однако возможные взаимодействия между сывороточными ферментами и каталитическими антителами, их соотношения в реакциях с различными субстратами не изучены. Эти реакции могут играть важную роль как в противоопухолевых, так и проопухолевых процессах.

Целью работы явилось исследование ДНКазной, различных видов протеолитической и оксидоредуктазной сывороточной и абзимной активности, а также сывороточного содержания свободной ДНК у пациенток с опухолями молочной железы в соответствии с клиническими, патологоанатомическими и иммуногистохимическими характеристиками опухолей.

Методы исследований

В группы исследования включены пациентки со злокачественными новообразованиями молочной железы (ЗНО) (n=107), с доброкачественными новообразованиями молочной железы (фиброаденома, ФА) (n=40) и женщины без новообразований (контрольная группа, КГ) (n=36).

Средний возраст пациенток составил: в группе ЗНО 63,8±11,3 лет, в группе ФА 49,8±10,8 лет, в контрольной группе 53,6±10,9 лет (данные выражены в виде M±σ).

Обследование пациенток соответствовало приказам Министерства здравоохранения

Республики Беларусь №258 от 10.03.2012 и №60 от 06.07.2018.

Для анализа забирали периферическую венозную кровь пациенток натошак. Последовательное выделение иммуноглобулинов класса A и G из образцов сыворотки крови проводили по предложенному нами ранее способу [53]. Выделенные образцы хранили в пластиковых пробирках при температуре -20°C . Ранее нами описаны методики определения каталитической активности сывороток и иммуноглобулинов [25]. В нынешнем исследовании использованы те же методики, субстраты и реагенты.

При определении удельной абзимной активности конечная концентрация IgG во всех реакциях составляла 1 мг/мл, IgA – 100 мкг/мл.

Оценка концентрации ИГ в сыворотке крови выполнялась при помощи наборов для иммуноферментного определения концентрации общего иммуноглобулина класса G и класса A в сыворотке крови производства ЗАО «Вектор-Бест» согласно инструкциям, прилагаемым к наборам.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась прикладными программами STATISTICA v.10.0, Statgraphics Centurion XVI. На основании выявленного методом Шапиро-Уилка ненормального распределения величин в работе использовали методы непараметрической статистики (двухвыборочный критерий Колмогорова-Смирнова, дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса, U-критерий Манна-Уитни). Данные приведены в виде медианы (Me) и межквартильного размаха [Q1; Q3]. Корреляцию анализировали при помощи коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

Результаты и обсуждение

1. Оценка ДНКазной, протеолитической и оксидоредуктазной активности и содержания свободной ДНК в сыворотках больных и здоровых лиц

В таблице 1 приведены результаты исследования уровней протеолитической, оксидоредуктазной и нуклеазной активности сыворотки крови исследуемых групп. Необходимо отметить, что активности эластазы и катепсина С в исследованных образцах сывороток обнаружить не удалось.

В дальнейшем группа пациенток с РМЖ была разделена на подгруппы в зависимости от возраста (возрастная структура согласно ВОЗ), состояния репродуктивной системы, стадии заболевания, гистологических и биологических характеристик опухоли.

1.1. ДНКазная активность сыворотки крови

Активность сывороточной ДНКазы была исследована при трех температурных режимах. Показано нарастание активности с повышением температуры во всех обследованных группах (см. табл. 1). При 1-м и 3-м температурных режимах активность сыворотки крови пациенток со злокачественными опухолями молочной железы статистически значимо выше, чем в остальных изученных группах (ФА и КГ, $p < 0,05$), однако при 3-м температурном режиме различия были выражены значительно ($p = 0,000077$).

Сывороточная ДНКазная активность повышалась при наличии поражения регионарных лимфатических узлов (отсутствие поражения – 4,0 [2,5; 5,0], $n = 58$, наличие поражения – 4,5 [3,0; 5,0], $n = 38$, $p = 0,0027$). Повышение ДНКазной активности статистически значимо свидетельствовало о росте риска прогрессирования заболевания в течение 3-х лет после установления диагноза (без прогрессирования – 4,0 [2,5; 5,0], $n = 83$, с прогрессированием – 5,0 [4,0; 5,0], $n = 16$, $p = 0,017$).

Статистически значимые различия выявлены при сравнении ферментативной активности в группах с различной гистологической структурой. Так наименьшая активность наблюдалась при протоковой и дольковой карциномах ($p = 0,005$, табл. 2).

При сравнении молекулярно-биологических типов рака молочной железы наименьшая ДНКазная сывороточная активность проявлялась при наличии на клетках опухоли только гормонорецепторов (люминальный А тип) ($p = 0,026$), а люминальный В тип статистически значимо не отличался от тройного негативного и HER2/neu позитивного (табл. 3).

При анализе взаимосвязи установлено, что ДНКазная активность сыворотки крови слабо положительно коррелирует с гистологической структурой опухоли, ($r = 0,206$).

Полученные данные свидетельствуют об усилении ДНКазной сывороточной активности с увеличением распространенности опухолевого процесса, его прогрессировании, при более агрессивных и быстрорастущих опухолях. С одной стороны, это указывает на возможное опухолевое происхождение избытка сывороточных ДНКаз и их проопухолевый потенциал, способствующий распространению раковых клеток. Однако имеются исследования, где выявлена протективная роль ДНКазной активности, уменьшающая метастатическое распространение опухоли [39]. Тем самым не исключается компенсаторное усиление ДНКазной активности, соответствующее опухолевой прогрессии. Кроме того, известно, что ДНКазы могут разрушать ДНК нейтрофильных

Таблица 1. Ферментативная активность сыворотки крови в группах пациенток со злокачественными и доброкачественными новообразованиями молочной железы и здоровых лиц

Активность, ед	1. ЗНО		2. ФА		3. КГ	
	n	Me [25%; 75%]	n	Me [25%; 75%]	n	Me [25%; 75%]
ДНКазная активность:						
1-й режим *#^	103	4,5 [2,5; 5,0]	40	2,5 [2,0; 5,0]	36	2,5 [2,0; 4,0]
2-й режим		5,0 [5,0; 5,0]		5,0 [4,25; 5,0]		5,0 [5,0; 5,0]
3-й режим *#^		4,5 [2,5; 5,0]		2,5 [2,0; 5,0]		2,5 [2,0; 3,25]
БАПНА-амидазная активность	105	0,108 [0,068; 0,157]	40	0,096 [0,0695; 0,121]	36	0,091 [0,066; 0,186]
Активность катепсина G *	105	0,151 [0,106; 0,191]	38	0,117 [0,088; 0,144]	35	0,133 [0,093; 0,182]
Активность катепсина B #^	103	0,430 [0,339; 0,500]	39	0,384 [0,332; 0,480]	36	0,495 [0,396; 0,539]
Пероксидазная активность	87	1,229 [0,761; 1,897]	34	1,256 [1,014; 1,638]	36	1,497 [0,898; 2,062]
Каталазная активность *	103	62,9% [34,4%; 83,3%]	35	84,0% [46,7%; 89,6%]	35	61,5% [52,2%; 84,9%]

Примечание: * – отличия статистически значимы между 1 и 2 группами, # – между 1 и 3 группами; ^ – между 2 и 3 группами, $p < 0,05$; ЗНО – пациентки со злокачественными новообразованиями молочной железы, ФА – пациентки с доброкачественными новообразованиями молочной железы (фиброаденома), КГ – контрольная группа (здоровые лица).

Таблица 2. ДНКазная активность сыворотки крови при различных гистологических типах опухолей

Гистологическая структура	Протоковый рак	Дольковый рак	Неспецифический рак
Значение ДНКазной активности	4,0 [2,0; 5,0], n=27	3,5 [2,5; 5,0] n=24	5,0 [4,0; 5,0] n=30

Таблица 3. ДНКазная активность сыворотки крови при различных биологических типах опухолей

Биологический тип опухоли	Люминальный А	Люминальный В	HER2/neu+	Тройной негативный
Значение ДНКазной активности	3,75 [2,5; 5,0], n=48	5,0 [3,0; 5,0] n=11	4,0 [2,5; 5,0] n=7	4,0 [2,5; 5,0] n=18

внеклеточных ловушек (НВЛ), участвующих в метастазировании [34]. Таким образом, не исключается нарастание сывороточной ДНКазной активности в ответ на опухолевую стимуляцию как механизм защиты от прогрессирования.

1.2. Оценка содержания свободной ДНК в сыворотке крови пациенток с новообразованиями молочной железы и здоровых лиц

Содержание свободной ДНК статистически значимо не различался во всех группах пациенток, однако имеется тенденция к увеличению содержания ДНК у здоровых лиц по сравнению с группами пациенток с патологией (табл. 4).

При анализе группы РМЖ выявлено, что содержание свободной ДНК в сыворотке крови статистически значимо увеличивается с возрастом и изменением репродуктивного статуса пациентки ($p=0,035$, табл. 5).

Также было установлено, что уровень сывороточной ДНК более чем в 2 раза ниже при увеличении риска прогрессирования заболевания в течение 3-х лет после установления диагноза (без прогрессирования – 140,93 [87,62; 197,85], $n=83$; с прогрессированием – 67,71 [48,95; 75,98], $n=16$, $p=0,000007$).

Данные изменения могут быть связаны и с увеличением сывороточной ДНКазной активности.

1.3. Протеолитическая активность сыворотки крови

В предварительных экспериментах изучалось взаимодействие сывороток и ИГ с несколькими синтетическими субстратами протеолиза, различными по структуре. При этом не удалось обнаружить протеолитическую активность сывороток и абзимов в отношении субстратов катепсина С и нейтрофильной эластазы.

БАПНА-амидазная активность сывороток крови статистически значимо не различалась между группами пациенток со злокачественными и доброкачественными опухолями и здоровых лиц (см. табл. 1, $p > 0,05$), однако данный показатель был связан со степенью дифференцировки опухоли – уровень активности при низкокодифференцированных опухолях статистически значимо выше, чем при умеренно и высококодифференцированных ($p = 0,012$, табл. 6).

Аналогичная тенденция выявлена для зависимости от уровня фактора пролиферации Ki-67 – происходит нарастание ферментативной активности при повышении активности пролиферативной ($p = 0,013$, табл. 7).

БАПНА-амидазная активность сыворотки крови слабо положительно коррелирует со степенью дифференцировки опухоли, ее пролиферативной активностью ($r = 0,279$, $r = 0,215$, $p = 0,01$, $p = 0,049$, соответственно).

Активность катепсина G сыворотки крови статистически значимо выше при злокачественных поражениях молочной железы, чем при доброкачественных опухолях и у здоровых лиц (см. табл. 1, $p = 0,018$). Она является максимальной при неспецифическом гистологическом типе опухоли в сравнении с протоковым и дольковым РМЖ ($p = 0,042$, табл. 8).

Уровни катепсина G также статистически значимо различаются при разных молекулярно-биологических типах РМЖ. Наивысший уровень наблюдается при тройном негативном типе ($p = 0,010$, табл. 9). Активность также нарастает при повышении уровня фактора пролиферации Ki-67 ($p = 0,039$, табл. 10).

Сывороточная активность катепсина G умеренно положительно коррелирует с иммуногистохимической структурой опухоли ($r = 0,322$, $p = 0,0026$).

Полученные результаты не исключают опухолевое происхождение данных ферментов и важной их роли в распространении и прогрессировании опухоли.

Следует отметить, что у всех пациентов ($n = 6$), умерших от РМЖ в течение 3-х лет с момента

установления диагноза, активность катепсина G была статистически значимо ниже, чем в остальной группе (0,102 Ед [0,086; 0,120] в сравнении с 0,156 Ед [0,106; 0,189]; $p = 0,014$).

Активность катепсина В статистически значимо выше в группе здоровых лиц, чем у пациенток с фибroadеномами и РМЖ ($p = 0,004$ и $p = 0,048$, соответственно). Активность катепсина В имеет сходную тенденцию в отношении взаимосвязи с прогрессированием, как и ДНКазная активность – с повышением риска прогрессирования в течение 3-х лет после постановки диагноза повышается и активность (0,416 [0,336; 0,488] без прогрессирования, $n = 82$, 0,491 [0,413; 0,584] с прогрессированием, $n = 16$, $p = 0,015$).

Активность катепсина В сыворотки крови слабо положительно коррелирует с риском прогрессирования опухоли ($r = 0,211$).

Тем самым для катепсина В не исключается его протективное действие в отношении РМЖ – понижение активности фермента в сравнении со здоровыми лицами может способствовать развитию неоплазии, а нарастание активности при прогрессировании – расцениваться как компенсаторная защитная реакция.

1.4. Оксидоредуктазная активность сыворотки крови

Различий в уровнях сывороточной пероксидазной активности между изучаемыми группами обнаружено не было (см. табл. 1, $p > 0,05$).

Однако было установлено, что этот вид активности статистически значимо ниже при увеличении риска прогрессирования опухоли в течение 3-х лет после постановки диагноза (без прогрессирования – 1,335 [0,88; 1,918] $n = 71$; с прогрессированием 0,8605 [0,582; 1,188], $n = 12$, $p = 0,024$). При этом уровень пероксидазной активности у пациенток с прогрессированием также оказался ниже значений пероксидазы здоровых лиц ($p = 0,031$) и пациенток с фибroadеномой ($p = 0,053$).

Пероксидазная активность сыворотки статистически значимо выше при люминальных А и В типах опухоли, чем при HER2/neu-позитивных ($p = 0,011$, табл. 11).

Каталазная активность сыворотки крови при РМЖ статистически значимо ниже, чем при доброкачественных опухолях ($p = 0,011$). Данная активность статистически значимо снижается при росте числа пораженных метастазами регионарных лимфоузлов ($p = 0,0087$, табл. 12), а также при запущенных стадиях заболевания (III и IV стадии) ($p = 0,0495$, табл. 13).

Таблица 4. Содержание свободной ДНК в сыворотке

	РМЖ		ФА		КГ	
	n	Me [25%; 75%]	n	Me [25%; 75%]	n	Me [25%; 75%]
Концентрация ДНК, нг/мл	101	138,57 [93,391; 181,135]	35	149,537 [95,246; 188,964]	34	160,881 [118,267; 221,398]

Примечание: ЗНО – пациентки со злокачественными новообразованиями молочной железы, ФА – пациентки с доброкачественными новообразованиями молочной железы (фиброаденома), КГ – контрольная группа (здоровые лица).

Таблица 5. Содержание свободной ДНК в сыворотке

	Репродуктивный возраст		Менопауза		Постменопауза	
	n	Me [25%; 75%]	n	Me [25%; 75%]	n	Me [25%; 75%]
Концентрация ДНК, нг/мл	6	97,849 [71,396; 121,661]	8	129,349 [52,922; 165,529]	83	142,582 [93,391; 184,539]

Таблица 6. БАПНА-амидазная активность сыворотки крови в зависимости от степени дифференцировки опухоли

Степень дифференцировки опухоли	Высоко-дифференцированная опухоль, G1	Средне-дифференцированная опухоль, G2	Низко-дифференцированная опухоль, G3
Значение БАПНА-амидазной активности	0,095 [0,060; 0,127], n=4	0,094 [0,0605; 0,1345] n=44	0,129 [0,090; 0,214] n=35

Таблица 7. БАПНА-амидазная активность сыворотки крови в зависимости от пролиферативной активности опухоли.

Пролиферативная активность опухоли	Низкая активность, Ki-67<20%	Умеренная активность, 20%<Ki-67<50%	Высокая активность, Ki-67>50%
Значение БАПНА-амидазной активности	0,090 [0,060; 0,127], n=59	0,129 [0,074; 0,237] n=19	0,136 [0,108; 0,157] n=5

Таблица 8. Сывороточная активность катепсина G при разной гистологической структуре опухолей

Гистологическая структура	Протоковый рак	Дольковый рак	Неспецифический рак
Значение активности катепсина G	0,141 [0,089; 0,182], n=27	0,141 [0,095; 0,164] n=21	0,177 [0,120; 0,215] n=30

Таблица 9. Сывороточная активность катепсина G в зависимости от молекулярно-биологического типа опухоли

Молекулярно-биологический тип опухоли	Люминальный А	Люминальный В	HER2/neu-позитивный	Тройной негативный
Значение активности катепсина G	0,139 [0,084; 0,1705], n=48	0,124 [0,107; 0,175] n=11	0,163 [0,132; 0,196] n=8	0,1825 [0,1415; 0,288], n=20

Таблица 10. Сывороточная активность катепсина G в зависимости от пролиферативной активности опухоли

Пролиферативная активность опухоли	Низкая активность, Ki-67<20%	Умеренная активность, 20%<Ki-67<50%	Высокая активность, Ki-67>50%
Значение активности катепсина G	0,142 [0,089; 0,181], n=49	0,139 [0,115; 0,159] n=17	0,215 [0,183; 0,279] n=5

Имеется тенденция к уменьшению каталазной активности при росте фактора пролиферации Ki-67 ($p=0,029$, табл. 14).

Сывороточная каталазная активность слабо отрицательно коррелирует с наличием метастатического поражения регионарных лимфоузлов и стадией заболевания ($r=-0,249$, $r=-0,252$, $p=0,015$, $p=0,012$, соответственно).

Исходя из полученных результатов, следует указать на возможную протективную роль пероксидазы и каталазы; активность данных ферментов изменяется в процессе образования и роста злокачественных опухолей.

2. Абзимная активность иммуноглобулинов классов G и A

2.1. Удельная абзимная активность (концентрация IgG 1 мг/мл, IgA 100 мкг/мл)

Суммарные результаты по различным видам удельной каталитической активности антител классов G и A представлены в таблице 15.

2.1.1. Удельная ДНКазная активность поликлональных ИГ классов G и A

Значимых различий удельной ДНКазной активности IgG или IgA в обследованных группах обнаружить не удалось.

Выявлено, что активность IgG при размере опухоли менее 2 см (соответствует T1 по международной классификации TNM, 2017 г.) статистически значимо ниже, чем при опухолях больших размеров ($p=0,0097$, табл. 16).

Удельная ДНКазная активность как IgG, так и IgA статистически значимо выше при отсутствии метастатического поражения регионарных лимфатических узлов (IgG – отсутствие поражения – 0,5 Ед. [0,0; 1,5], $n=50$; наличие поражения – 0,5 Ед. [0; 1,0], $n=29$, $p=0,017$; для IgA – отсутствие поражения – 1,0 Ед. [0,5; 1,5], $n=48$; наличие поражения – 0,5 Ед. [0; 1,0], $n=31$; $p=0,006$).

Рост ДНКазной активности IgG (более чем в 2 раза) и IgA (в 2 раза) наблюдается в случае прогрессирования опухоли в течение 3-х лет после постановки диагноза (для IgG: 0,5 Ед. [0; 1,0] – без прогрессирования, $n=67$, 1,3 Ед. [0,75; 3,0] – прогрессирование в течение 3-х лет, $n=16$, $p=0,002$; для IgA: 0,5 Ед. [0; 1,0], $n=68$ и 1,0 Ед. [0,75; 1,75], $n=16$, соответственно, $p=0,032$).

При сравнении ДНКазной активности IgG и IgA при наиболее часто встречающихся гистологических типах опухолей молочных желез выявлено, что самая высокая активность наблюдается при дольковом раке ($p=0,0077$ и $p=0,033$, для IgG

и IgA, соответственно, табл. 17), протоковый и неспецифический типы статистически значимо между собой не различаются. ДНКазная активность IgA статистически значимо уменьшается от репродуктивного возраста к постменопаузе ($p=0,0015$, табл. 18).

Также представляет интерес обнаруженный феномен усиления ДНКазной абзимной активности при наличии отдаленных метастазов (0,5 Ед. [0; 1,5] – отсутствие метастазов, $n=83$, 2,0 Ед. [2,0; 3,0] – наличие метастазов, $n=3$), которое оказалось статистически значимым ($p=0,017$), несмотря на единичное число наблюдений. В этой связи максимальная ДНКазная активность IgA выявлялась при 4 стадии заболевания ($p=0,036$, табл. 19).

Связей с иммуногистохимической структурой опухолей для ДНКазной активности IgG и IgA не выявлено.

Удельная ДНКазная активность IgG слабо отрицательно коррелирует с репродуктивным статусом пациенток ($r=-0,224$, $p=0,039$), слабо положительно – со стадией заболевания и риском прогрессирования заболевания ($r=0,238$, $r=0,27$, $p=0,03$, $p=0,013$, соответственно), умеренно положительно – с размером и распространенностью первичной опухоли ($r=0,349$, $p=0,0014$).

Удельная ДНКазная активность IgA слабо отрицательно коррелирует с наличием регионарных метастазов в лимфоузлах ($r=-0,23$, $p=0,039$), слабо положительно – с наличием отдаленных метастазов ($r=0,259$, $p=0,017$) и умеренно отрицательно с репродуктивным статусом пациенток ($r=-0,367$, $p=0,0007$).

Полученные данные указывают на то, что ДНКазная активность IgG и IgA увеличивается по мере роста и прогрессирования опухоли, что, возможно является реакцией организма на патологический процесс и попыткой элиминировать опухолевую ДНК из кровотока.

2.1.2. Удельная протеолитическая активность каталитических ИГ

При оценке удельной БАПНА-амидазной активности ИГ статистически значимых отличий между обеими группами пациенток с новообразованиями и здоровыми лицами обнаружено не было. Сходным образом не удалось выявить различий и между отдельными подгруппами пациенток с РМЖ. Удельная БАПНА-амидазная активность IgA умеренно отрицательно коррелирует с размером и распространенностью первичной опухоли ($r=-0,32$, $p=0,003$).

Удельная катепсиноподобная активность IgG и IgA в отношении субстрата катепсина G стати-

Таблица 11. Пероксидазная активность сыворотки крови при различных биологических типах опухолей

Биологический тип опухоли	Люминальный А	Люминальный В	HER2/neu+	Трижды негативный
Значение пероксидазной активности	1,396 [0,844; 2,006], n=39	1,1875 [1,09; 1,571] n=8	0,646 [0,375; 1,036] n=6	1,07 [0,713; 1,761] n=17

Таблица 12. Каталазная активность сыворотки крови при поражении регионарных лимфатических узлов

Поражение лимфатических узлов	N0	N1	N2	N3
Значение каталазной активности	71,8 [49,6; 84,5], n=57	58,6 [33,7; 78,5] n=23	28,9 [28,1; 40,5] n=5	33,05 [20,1; 64,1] n=10

Таблица 13. Каталазная активность сыворотки крови в зависимости от стадии

Стадия	Стадия 0	Стадия 1	Стадия 2	Стадия 3	Стадия 4
Значение каталазной активности	84,3 [81,7; 88,3], n=3	70,0 [42,6; 86,8] n=35	63,8 [38,9; 80,7] n=41	40,5 [28,1; 64,1] n=15	56,55 [31,55; 78,2] n=4

Таблица 14. Каталазная активность сыворотки крови в зависимости от пролиферативной активности опухоли

Проллиферативная активность опухоли	Низкая активность, Ki-67<20%	Умеренная активность, 20%<Ki-67<50%	Высокая активность, Ki-67>50%
Значение каталазной активности	59,6 [28,9; 80,7], n=62	73,5 [58,6; 85,6] n=17	42,6 [34,4; 53,7] n=5

Таблица 15. Абзимная активность сыворотки крови в группах пациенток со злокачественными и доброкачественными новообразованиями молочной железы и здоровых лиц

Единицы измерения, Ед.		1. ЗНО		2. ФА		3. КГ	
		n	Me [25%; 75%]	n	Me [25%; 75%]	n	Me [25%; 75%]
ДНКазная активность:	IgG	87	1,0 [0,5; 1,5]	33	0,5 [0,0; 1,0]	29	1,0 [0,5; 1,0]
	IgA	89	0,5 [0,0; 1,5]	33	1,0 [0,0; 1,0]	29	1,0 [0,5; 1,5]
БАПНА-амидазная активность	IgG	88	0,008 [0; 0,025]	33	0,004 [0; 0,010]	27	0,006 [0,002; 0,012]
	IgA	88	0,007 [0; 0,035]	32	0,0125 [0,001; 0,034]	28	0,003 [0; 0,018]
Активность катепсина G	IgG*#^	87	0,016 [0,003; 0,059]	31	0,019 [0; 0,099]	28	0,000 [0; 0,032]
	IgA*#	86	0,009 [0,002; 0,026]	30	0,0075 [0; 0,060]	27	0,002 [0; 0,010]
Активность катепсина В	IgG#^	63	0,004 [0,001; 0,010]	23	0,007 [0,003; 0,014]	20	0,013 [0,009; 0,018]
	IgA	65	0,004 [0,001; 0,010]	23	0,003 [0,001; 0,007]	21	0,002 [0,001; 0,006]
	IgA	89	0,5 [0,0; 1,5]	33	1,0 [0,0; 1,0]	29	1,0 [0,5; 1,5]
Каталазная активность	IgG*^	83	26,30 [17,19; 35,37]	33	30,04 [15,33; 41,84]	27	20,27 [14,28; 23,68]
	IgA#^	85	40,46 [31,81; 49,51]	32	37,91 [24,76; 48,09]	29	22,49 [16,82; 37,05]

Примечание: * – отличия статистически значимы между 1 и 2 группами, # – между 1 и 3 группами; ^ – между 2 и 3 группами; ЗНО – пациентки со злокачественными новообразованиями молочной железы, ФА – пациентки с доброкачественными новообразованиями молочной железы (фиброаденома), КГ – контрольная группа (здоровые лица).

Таблица 16. ДНКазная активность IgG при различных размерах и распространенности первичной опухоли

Размер и распространённость первичной опухоли, Ед.	T1	T2	T3	T4
Значение ДНКазной активности IgG	0,5 [0,0; 1,0] n=47	1,0 [0,7; 2,0] n=30	1,0 [0,5; 3,0] n=3	1,0 [0,5; 1,5] n=3

стически значимо ниже у здоровых лиц по сравнению с пациентками с патологией молочной железы ($p=0,003$ и $p=0,023$, соответственно, таблица 13). При этом активность IgA статистически значимо выше при отсутствии метастатического поражения регионарных лимфатических узлов (отсутствие поражения – 0,015 Ед. [0,004; 0,094], $n=46$, наличие поражения – 0,005 Ед. [0,002; 0,013], $n=27$, $p=0,041$).

Удельная катепсиноподобная активность IgA в отношении субстрата катепсина G слабо отрицательно коррелирует с наличием метастатически пораженных регионарных лимфоузлов ($r=-0,249$, $p=0,033$).

Удельная активность катепсина B для IgG в свою очередь статистически значимо выше у здоровых лиц в отличие от пациенток с патологией молочной железы ($p=0,001$), для IgA разницы не выявлено. Активность IgG увеличивается при появлении метастазов в регионарных лимфатических узлах (отсутствие поражения лимфоузлов – 0,004 Ед. [0,001; 0,0075], $n=36$, наличие поражения – 0,008 Ед. [0,003; 0,014], $n=21$, $p=0,026$). Также активность IgG статистически значимо выше при HER2/neu позитивном типе рака, чем при люминальном A (HER2/neu+ – 0,0135 Ед. [0,01; 0,014], $n=6$, люминальный A – 0,004 Ед. [0,002; 0,01], $n=35$, $p=0,03$). Удельная катепсиноподобная активность IgG в отношении субстрата катепсина B слабо положительно коррелирует с наличием метастазов в регионарных лимфоузлах ($r=0,275$, $p=0,003$).

Подобные изменения, так же как и для сывороточной активности катепсина B, могут указывать на протективную функцию подобных антител и активацию этой защиты при агрессивных и распространенных опухолях.

2.1.3. Удельная оксидоредуктазная активность каталитических антител

Каталазная активность IgG и IgA статистически значимо ниже в группе здоровых лиц по сравнению с пациентками с доброкачественными и злокачественными опухолями ($p=0,015$ и $p=0,025$, соответственно, табл. 13). Активность ИГ класса G статистически значимо снижается при увеличении риска прогрессирования заболевания (26,6 Ед. [21,4; 36,7] – без прогрессирования, $n=66$, 17,2 Ед. [12,2; 25,0] – с прогрессированием заболевания в течение 3-х лет после установления диагноза, $n=16$, $p=0,003$). Также выявлено, что активность IgG выше при протоковом раке молочной железы, чем при других типах ($p=0,03$, табл. 20).

Каталазная активность IgA статистически значимо увеличивается при росте размера и распространенности первичной опухоли. Так, значение активности при Tis не отличается от такового в группе здоровых лиц, а самая высокая активность наблюдается при наличии инвазии в кожу и/или грудную стенку, что соответствует T4 ($p=0,017$, табл. 21).

Каталазная активность IgA статистически значимо снижается при повышении пролиферативной активности клеток опухоли, выраженной уровнем фактора пролиферации Ki-67 ($p=0,019$).

Удельная каталазная активность IgG слабо отрицательно коррелирует с риском прогрессирования опухолевого процесса ($r=-0,26$, $p=0,017$).

Удельная каталазная активность IgA слабо отрицательно коррелирует с риском развития второй и последующих опухолей другой локализации ($r=-0,236$, $p=0,03$).

В данном случае, возможно, имеет место протективная роль каталазной активности антител, так как до определенного момента она нарастает в попытке контролировать рост опухоли, но при срыве защитных механизмов данная активность падает параллельно с прогрессированием опухолевого процесса.

2.2. Общая абзимная активность IgG и IgA (в 1 мл сыворотки крови)

В дальнейшем было проведено определение содержания иммуноглобулинов классов G и A в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа с пересчетом величин абзимной активности на 1 мл сыворотки. Полученные значения (табл. 22) выражали в условных единицах, как описано выше.

Абзимная БАПНА-амидазная активность IgG и IgA статистически значимо не различалась при злокачественных и доброкачественных новообразованиях молочной железы и у здоровых лиц. Наблюдается снижение активности IgG и IgA при увеличении риска прогрессирования заболевания в течение 3 лет после установления диагноза ($p=0,045$ и $p=0,05$, соответственно). Самая высокая активность IgG выявлена при люминальном A типе РМЖ ($p=0,032$).

Общая БАПНА-амидазная активность IgG слабо отрицательно коррелирует с молекулярно-биологическим типом опухоли ($r=-0,280$, $p=0,025$).

Общая БАПНА-амидазная активность IgA слабо отрицательно коррелирует с размером и распространенностью первичной опухоли ($r=-0,245$, $p=0,037$).

Таблица 17. ДНКазная активность IgG и IgA при различных гистологических типах опухолей

Гистологическая структура, Ед.	Дольковый рак	Протоковый рак	Неспецифический рак
Значение ДНКазной активности IgG	1,0 [0,5; 2,0] n=23	0,5 [0,0; 1,0], n=21	0,5 [0,5; 1,0] n=21
Значение ДНКазной активности IgA	1,0 [0,5; 2,0], n=23	0,5 [0; 1,0], n=23	0,5 [0; 1,0], n=21

Таблица 18. ДНКазная активность IgA в зависимости от репродуктивного статуса

Репродуктивный статус, Ед.	Репродуктивный возраст	Менопауза	Постменопауза
Значение ДНКазной активности IgA	2,5 [1,0; 3,0], n=6	1,25 [1,0; 1,5] n=8	0,5 [0; 1,0] n=73

Таблица 19. ДНКазная активность IgA при различных размерах и распространенности первичной опухоли.

Стадия, Ед.	Стадия 0	Стадия 1	Стадия 2	Стадия 3	Стадия 4
Значение ДНКазной активности IgA	1,0 [0,5; 1,0], n=3	0,5 [0,15; 1,25] n=28	1,0 [0,5; 1,5] n=33	0,5 [0,0; 1,0] n=13	2,0 [2,0; 3,0] n=3

Таблица 20. Каталазная активность IgG при различных гистологических типах опухолей

Гистологическая структура, Ед.	Протоковый рак	Дольковый рак	Неспецифический рак
Значение каталазной активности IgG	30,81 [21,9; 57,04], n=21	22,9 [14,72; 30,38] n=22	26,26 [23,41; 30,93] n=22

Таблица 21. Каталазная активность IgA в зависимости от распространенности первичной опухоли

Распространенность первичной опухоли, Ед.	Tis	T1-3	T4
Значение каталазной активности IgG	26,03 [21,63; 40,46], n=3	41,2 [32,53; 49,67] n=76	62,1 [57,02; 126,75] n=3

Таблица 22. Абзимная активность IgG и IgA в 1 мл сыворотки

		1. ЗНО		2. ФА		3. КГ	
		n	Me [25%; 75%]	n	Me [25%; 75%]	n	Me [25%; 75%]
БАПНА-амидазная активность	IgG	74	0,053 [0; 0,177]	29	0,009 [0; 0,055]	27	0,031 [0,013; 0,064]
	IgA	75	0,092 [0; 0,489]	28	0,221 [0; 0,487]	26	0,041 [0; 0,371]
Активность катепсина G	IgG*#	69	0,191 [0,034; 0,707]	25	0,036 [0; 0,332]	27	0,000 [0,000; 0,091]
	IgA*#	65	0,158 [0,053; 0,637]	26	0,0275 [0; 0,215]	27	0,021 [0; 0,152]
Активность катепсина B	IgG#^	50	0,027 [0,008; 0,074]	19	0,032 [0,014; 0,054]	20	0,065 [0,037; 0,099]
	IgA	54	0,052 [0,005; 0,122]	20	0,024 [0,004; 0,043]	21	0,043 [0,016; 0,097]
ДНКазная активность:	IgG*	74	5,25 [0; 12,8]	30	3,1 [0; 6,5]	28	4,2 [1,9; 6,05]
	IgA	74	9,15 [0; 25,1]	28	5,25 [0; 15,7]	28	13,45 [7,1; 23,25]
Каталазная активность	IgG#^	73	213,07 [81,74; 347,21]	29	146,72 [81,64; 250,55]	28	102,05 [55,46; 161,43]
	IgA	71	488,96 [280,6; 995,51]	30	377,00 [189,91; 808,92]	28	417,29 [283,92; 740,1]

Примечание: * – отличия статистически значимы между 1 и 2 группами, # – между 1 и 3 группами; ^ – между 2 и 3 группами; ЗНО – пациентки со злокачественными новообразованиями молочной железы, ФА – пациентки с доброкачественными новообразованиями молочной железы (фиброаденома), КГ – контрольная группа (здоровые лица).

Абзимная активность IgG в отношении субстрата катепсина G статистически значимо снижается от злокачественной патологии к доброкачественной и затем к здоровым лицам ($p < 0,001$). Аналогичное снижение наблюдается для активности IgA ($p = 0,001$). Данная тенденция повторяет данные, полученные при определении удельной каталитической активности ИГ. Активность IgG растет при увеличении риска прогрессирования заболевания в течение 3-х лет после постановки диагноза (без прогрессирования – 0,16 [0,029; 0,724], $n = 55$; с прогрессированием – 0,239 [0,181; 0,656], $n = 13$; $p = 0,05$). Общая активность IgG и IgA в отношении субстрата катепсина G умеренно положительно коррелирует с наличием злокачественной или доброкачественной опухоли молочной железы ($r = 0,410$; $r = 0,336$, $p = 0,0$, $p = 0,0002$, соответственно).

Обратная тенденция наблюдается для активности IgG в отношении субстрата катепсина B: наименьшая активность наблюдается в группе пациентов со злокачественными новообразованиями, наибольшая – в группе здоровых лиц ($p = 0,017$). Общая активность IgG в отношении субстрата катепсина B слабо отрицательно коррелирует с наличием злокачественной или доброкачественной опухоли молочной железы ($r = -0,275$, $p = 0,0077$).

Общая каталазная активность IgG в 1 мл сыворотки при РМЖ оказалась выше, чем при доброкачественной патологии и у здоровых лиц ($p = 0,03$), при этом ее максимальная удельная активность обнаруживалась в группе пациенток с доброкачественными новообразованиями молочной железы. Общая каталазная активность IgG слабо положительно коррелирует с наличием злокачественной или доброкачественной опухоли молочной железы ($r = 0,208$, $p = 0,0176$).

Каталазная активность IgA выше при распространении опухоли на кожу и грудную стенку (что соответствует T4, $p = 0,023$), а также при люминальном A типе рака, по сравнению с люминальным B ($p = 0,024$). Общая каталазная активность IgA слабо положительно коррелирует с гистологической структурой опухоли ($r = 0,249$).

Общая ДНКазная активность IgG умеренно положительно коррелирует с размером и распространенностью первичной опухоли ($r = 0,345$) и слабо положительно с риском прогрессирования опухолевого процесса ($r = 0,268$).

Общая ДНКазная активность IgA слабо отрицательно коррелирует с репродуктивным статусом пациенток ($r = -0,262$), слабо положительно с наличием отдаленных метастазов и гистологическим типом опухоли ($r = 0,253$, $r = 0,272$, соответственно).

2.3. Удельная и общая антиоксидантная активность IgG и IgA

При оценке влияния иммуноглобулинов классов G и A на пероксидазную реакцию (окисление тетраметилбензидина) было установлено, что за исключением отдельных наблюдений, происходило ингибирование данной реакции, тем самым антитела проявляли антиоксидантную активность. Результаты выражались в процентах ингибирования спонтанного протекания реакции (табл. 23).

Удельная антиоксидантная активность IgG и IgA у пациенток обеих групп с новообразованиями молочных желез оказалась выше, чем в контроле ($p = 0,017$ и $p < 0,0001$, соответственно, табл. 23).

Удельная антиоксидантная активность IgG слабо отрицательно коррелирует с пролиферативной активностью опухоли ($r = -0,245$).

Соответственно, антиоксидантная активность IgG в 1 мл сыворотки при опухолевой патологии молочной железы также оказалась повышенной в сравнении со здоровыми лицами ($p = 0,011$). В свою очередь, общая антиоксидантная активность IgA сыворотки при злокачественных новообразованиях превышала активность как здоровых лиц, так и пациенток с доброкачественными новообразованиями молочной железы ($p = 0,002$). Общая антиоксидантная активность IgA умеренно положительно коррелирует с наличием злокачественной или доброкачественной опухоли молочной железы ($r = 0,349$, $p = 0,0001$).

Общая антиоксидантная активность IgG слабо отрицательно коррелирует с наличием отдаленных метастазов и молекулярно-биологическим типом опухоли ($r = -0,289$, $r = -0,280$, $p = 0,0165$, $p = 0,029$, соответственно).

Общая антиоксидантная активность IgA слабо положительно коррелирует с размером и распространенностью первичной опухоли ($r = 0,244$, $p = 0,0438$).

Интересен тот факт, что из трех наблюдавшихся пациентов с отдаленными метастазами РМЖ у двоих в пробах ИГ обнаружена значимая положительная пероксидазная активность (свыше 0,1 Ед. оптической плотности).

В целом проведенные нами исследования показали, что отдельные виды сывороточной ферментативной и абзимной активности существенно изменяются при злокачественных и доброкачественных опухолях молочной железы в сравнении с аналогичной активностью здоровых лиц. Пока не ясна роль обнаруженных изменений в развитии опухолевого процесса – участвуют ли данные ферменты и абзимы непосредственно в

Таблица 23. Удельная и общая антиоксидантная активность IgG и IgA

		1. ЗНО		2. ФА		3. КГ	
		n	Me [25%; 75%]	n	Me [25%; 75%]	n	Me [25%; 75%]
Удельная антиоксидантная активность	IgG#^	54	31,26% [21,36%; 38,83%]	29	31,85% [26,07%; 38,24%]	29	23,03% [16,97%; 31,52%]
	IgA#^	83	30,11% [23,3%; 40,0%]	31	33,53% [20,96%; 38,92%]	24	14,09% [9,06%; 18,46%]
Общая антиоксидантная активность	IgG#^	63	204,21 [107,64; 418,5]	26	191,32 [126,41; 288,73]	28	110,61 [57,36; 203,02]
	IgA*#	67	51,15 [24,49; 79,5]	29	35,53 [11,73; 59,07]	23	20,4 [11,91; 39,14]

Примечание: * – отличия статистически значимы между 1 и 2 группами, # – между 1 и 3 группами; ^ – между 2 и 3 группами; ЗНО – пациентки со злокачественными новообразованиями молочной железы, ФА – пациентки с доброкачественными новообразованиями молочной железы (фиброаденома), КГ – контрольная группа (здоровые лица).

патогенезе заболевания, является ли их активность отражением иных механизмов, способствующих опухолевой прогрессии, или данная активность имеет протективный характер, препятствуя опухолевому росту. Безусловно, что все вышеперечисленное может послужить предметом для проведения дальнейших исследований в этом направлении.

Выводы

1. Иммуноглобулины классов G и A, выделенные из сывороток части пациенток с опухолевой патологией молочной железы, способны проявлять собственную каталитическую (абзимную) активность – протеолитическую, ДНКазную, каталазную.
2. Удельная (на единицу концентрации) каталитическая активность сывороточных IgA на 1-2 порядка превышает соответствующую абзимную активность сывороточных IgG.
3. Установлены значимые различия отдельных видов ферментативной сывороточной и абзимной активности между здоровыми лицами

и пациентками с доброкачественными и злокачественными новообразованиями молочной железы. В частности, у пациенток со злокачественными новообразованиями молочной железы ДНКазная активность сывороток крови статистически значимо выше, чем в остальных обследованных группах ($p < 0,05$). Также у них повышена абзимная активность IgG и IgA в отношении субстрата катепсина G ($p < 0,001$).

4. Прогрессирование РМЖ в течение 3 лет с момента установления диагноза сопровождается статистически значимым повышением сывороточной ДНКазной активности ($p = 0,017$), снижением концентрации сывороточной ДНК ($p < 0,001$), повышением активности сывороточного катепсина B ($p = 0,015$), снижением активности сывороточной пероксидазы ($p = 0,024$). Также в данной группе обнаружены значимые изменения абзимной активности: увеличение ДНКазной абзимной активности IgG ($p = 0,002$) и IgA ($p = 0,032$), снижение БАПНА-амидазной активности IgG и IgA ($p = 0,05$), снижение каталазной активности IgG-абзимов ($p = 0,003$).

Литература

1. Pauling L. Molecular Architecture and Biological Reactions. Chem. Eng. News. 1946; Vol. 24, №10: 1375–1377.
2. Buneva V.N., Nevinsky G.A. Exceptional Diversity of Catalytic Antibodies in the Blood of Patients with Autoimmune and Viral Diseases. Mol. Biol. (Mosk). 2017; 51: 969–984.
3. Генералов И.И. Комплексная оценка абзимной активности поликлональных IgG при аутоиммунных, вирусных и онкологических заболеваниях. Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2000; №3: 12–17.
4. Хитров А.Н. и др. ДНК-абзимы при ревматоидном артрите: патогенетическая и клиническая значимость. Терапевтический архив. 2005; Т. 77, №11.
5. Kundzer A.V. et al. Deoxyribonuclease activity of polyclonal IgGs: a putative serological marker in patients with spondyloarthritis. Immunol. Res. 2013; Vol. 56, №2-3: 457–464.
6. Paul S. et al. Catalytic hydrolysis of vasoactive intestinal peptide by human autoantibody. Science. 1989 Jun; Vol. 244, №4909: 1158–1162.
7. Генералов И.И. и др. Некоторые аспекты иммунного ответа на гиалуронидазу как фактор агрессии микроорганизмов. Актуальные вопросы патогенеза и терапии инфекционных и паразитарных болезней. Л., 1987: 10–16.
8. Генералов И.И. и др. Сравнительная характеристика каталитической активности сывороток и иммуноглобулинов

- при герпетической инфекции и вирусных гепатитах. Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2009; №4: 68-73.
9. Сучков С.В. и др. Достижения и перспективы клинической абзимологии. Мед. иммунология. 2006; Т. 8, №1: 23–30.
 10. Генералов И.И., Кундер Е.В., Моисеева А.М. Абзимы (каталитические антитела): применение в медицине. Иммунология. 2009; Т. 30, №2: 123–128.
 11. Сидорская Е.В., Генералов И.И., Огороков А.Н. Каталитическая активность препаратов IgG при заболеваниях щитовидной железы. Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2000; №1: 57-61.
 12. Baz K. et al. Oxidant / antioxidant status in patients with psoriasis. *Yonsei Med. J.* 2003 Dec; Vol. 44, №6: 987–990.
 13. Кундер Е.В. и др. Каталитическая активность IgG при изолированном кожном псориазе, псориатической ониходистрофии и артропатическом псориазе. *Вестн. ВГМУ.* 2007; Т. 6, №2: 56–61.
 14. Сепиашвили Р.И. и др. Антитела в патогенезе демиелинизирующих заболеваний аутоиммунной природы. *Аллергология и иммунология.* 2010; Т. 11, №1: 20–30.
 15. Пивень Н.В., Бураковский А.И., Лухверчик Л.Н. Патогенетическая роль аутоантител-абзимов при органоспецифической аутоиммунной патологии. *Мед. иммунология.* 2011; Т. 13, № 2/3: 145–150.
 16. Генералов И.И. Абзимная активность иммуноглобулинов. Витебск: ВГМУ, 2000, 152 с.
 17. Жильцов И.В. и др. Ферментативная активность препаратов IgG при вирусных гепатитах. *Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 1998; № 4: 73–77.
 18. Моисеева А.М. и др. Каталитическая активность иммуноглобулинов класса G у больных острыми кишечными инфекциями. *Иммунопатология, аллергология, инфектология.* 2007; №4: 63–69.
 19. Окулич В.К. Абзимная активность иммуноглобулинов при хирургической инфекции. *Новости хирургии.* 2016; Т. 24, №6: 568–578.
 20. Lacroix-Desmazes S. et al. High levels of catalytic antibodies correlate with favorable outcome in sepsis. *PNAS.* 2005 Mar; Vol. 102, №11: 4109–4113.
 21. Ermakov E.A. et al. Natural Catalytic IgGs Hydrolyzing Histones in Schizophrenia: Are They the Link between Humoral Immunity and Inflammation? *International Journal of Molecular Science.* 2020; 21: 7238.
 22. Мальцев К.А. и др. Каталитические аутоантитела – новый молекулярный инструмент в кардиологии и офтальмологии. *Терапевт. архив.* 2006; Т. 78, №11: 70–75.
 23. Matsuura K. et al. Pathogenicity of catalytic antibodies: catalytic activity of Bence Jones proteins from myeloma patients with renal impairment can elicit cytotoxic effects. *Biol. Chem.* 2006 May; Vol. 387, №5: 543–548.
 24. Kozyr A.V. et al. Autoantibodies to nuclear antigens: correlation between cytotoxicity and DNA-hydrolyzing activity. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2000 Jan-Mar; Vol. 83, №1/3: 255–268.
 25. Жерулик С.В. и др. Ферментативная активность сыворотки крови, абзимная активность IgG и IgA, свободная сывороточная ДНК и образования внеклеточных ловушек нейтрофилами у пациенток с новообразованиями молочной железы. *Иммунопатология, аллергология, инфектология.* 2017; №3: 41-50.
 26. Kompaneets I.Y. et al. Secretory immunoglobulin A from human milk hydrolyzes microRNA. *J Dairy Sci.* 2020 Aug; Vol. 103, №8: 6782–6797.
 27. Генералов И.И. и др. Абзимная активность поликлональных иммуноглобулинов класса A. *Вестн. ВГМУ.* 2014; Т. 13, №4: 42–47.
 28. Mitsuda Y. et al. Naturally occurring catalytic antibodies: evidence for preferred development of the catalytic function in IgA class antibodies. *Mol. Biotechnol.* 2007 Jun; Vol. 36, №2: 113-122.
 29. Polosukhina D.I. et al. Hydrolysis of myelin basic protein by IgM and IgA antibodies from the sera of patients with multiple sclerosis. *Med. Sci. Monit.* 2005; 11: 266–272.
 30. Planque S. et al. Characterization of gp120 hydrolysis by IgA antibodies from humans without HIV infection. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2007 Dec; 23(12): 1541-1554. doi: 10.1089/aid.2007.0081.
 31. The Global Cancer Observatory. – Mode of access: <https://gco.iarc.fr/>. – Date of access: 10.12.2021.
 32. Burnet M. Cancer; a biological approach. I. The processes of control. *Br Med J.* 1957; Vol. 1, №5022: 779–786.
 33. Никипелова Е.А. и др. Колоканцерогенез: онкоиммунология локальных изменений. «Злокачественные опухоли». 2016; №4, спецвыпуск 1, Т. 21: 81-86.
 34. Тельшева Е.Н. Свободно-циркулирующая ДНК плазмы крови. Возможности применения в онкологии. *Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии Минздрава России.* 2017; Т. 17, 2: 1–29.
 35. Bremnes R.M., Sirera R., Camps C. Circulating tumour-derived DNA and RNA markers in blood: a tool for early detection, diagnostics, and follow-up. *Lung Cancer.* 2005; Vol. 49: 1-12.
 36. Catarino R., Coelho A., Araujo A. Circulating DNA: Diagnostic Tool and Predictive Marker for Overall Survival of NSCLC Patients. *PLoS ONE.* 2012 Jun; Vol. 7, Iss. 6: e38559.
 37. Funakoshi A. Clinical studies of serum deoxyribonuclease activity in pancreatic disease. *Medicine Journal of Gastroenterology.* 2008; Vol. 14, №5: 436–440.
 38. Taper H.S. Altered Deoxyribonuclease Activity in Cancer Cells and its Role in Non Toxic Adjuvant Cancer Therapy with Mixed Vitamins C and K3. *Anticancer research.* 2008; 28: 2727-2732.
 39. Ulutaş A.D., Coşan D.T. The effect of DNase I on free DNAs and its relationship with metastasis: A preliminary results. 2020; 13/2.
 40. Xiao Y. et al. Cathepsin C promotes breast cancer lung metastasis by modulating neutrophil infiltration and neutrophil extracellular trap formation. *Cancer Cell.* 2021; 39: 423–437.
 41. Korkmaz B. et al. Cathepsin C inhibition as a potential treatment strategy in cancer. *Biochem Pharmacol.* 2021 Dec; 194: 114803. doi: 10.1016/j.bcp.2021.114803.
 42. Wilson T.J. et al. Cathepsin G enhances mammary tumor-induced osteolysis by generating soluble receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand. *Cancer Res* 2008; 68: (14), July 15: 5803-5811.
 43. Sionov R.V. et al. Neutrophil Cathepsin G and Tumor Cell RAGE Facilitate Neutrophil Anti-Tumor Cytotoxicity. *Oncoimmunology.* 2019 Jun; 11, 8(9): e1624129. doi: 10.1080/2162402X.2019.1624129.
 44. Skrzydlewska E. et al. Evaluation of serum cathepsin B and D in relation to clinicopathological staging of colorectal cancer. *World J Gastroenterol.* 2005 Jul; 21;11(27):4225-4229. doi: 10.3748/wjg.v11.i27.4225.
 45. Miyake H. Serum Level of Cathepsin B and its Density in Men with Prostate Cancer as Novel Markers of Disease Progression. *Anticancer Research.* 2004 Jul; 24 (4): 2573-2578.
 46. Yan Y. et al. Clinical significance of serum cathepsin B and cystatin C levels and their ratio in the prognosis of patients with esophageal cancer. *Onco Targets Ther.* 2017 Apr; 3, 10: 1947-1954. doi: 10.2147/OTT.S123042.
 47. Decock J. et al. Cathepsin B, cathepsin H, cathepsin X and cystatin C in sera of patients with early-stage and inflammatory

breast cancer. *Int J Biol Markers*. 2008 Jul-Sep; 23(3):161-168. doi: 10.5301/ijbm.2008.3270.

48. Didžiapetrienė J. et al. Significance of blood serum catalase activity and malondialdehyde level for survival prognosis of ovarian cancer patients. *Medicina (Kaunas)*. 2014; 50(4): 204-208. doi: 10.1016/j.medici.2014.09.001.

49. Pirinççi N. et al. Serum adenosine deaminase, catalase and carbonic anhydrase activities in patients with bladder cancer. *Clinics (Sao Paulo)*. 2012 Dec; 67(12):1443-1446. doi: 10.6061/clinics/2012(12)15.

50. Pirinççi N. et al. Serum adenosine deaminase, catalase, and carbonic anhydrase activities in patients with renal cell carcinoma. *Redox Rep*. 2017 Nov; 22(6): 252-256. doi: 10.1080/13510002.2016.1207364.

51. Zińczuk J. et al. Antioxidant Barrier, Redox Status, and Oxidative Damage to Biomolecules in Patients with Colorectal Cancer. Can Malondialdehyde and Catalase Be Markers of

Colorectal Cancer Advancement? *Biomolecules*. 2019; 9: 637. doi:10.3390/biom9100637.

52. Kalaga R., Li L., O'Dell J.R. et al. Unexpected presence of polyreactive catalytic antibodies in IgG from unimmunized donors and decreased levels in rheumatoid arthritis. *J. Immunol*. 1995; Vol. 155, №5: 2695–2702.

53. Жерулик С. В. Метод одновременного получения чистых иммуноглобулинов классов G и A для определения их абзимной активности. Актуальные вопросы современной медицины и фармации: материалы 68-й итоговой науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, 20-21 апреля 2016 г. М-во здравоохранения Республики Беларусь, Витебский гос. мед. ун-т: 323–325.

54. Kundzer A.V. et al. Deoxyribonuclease activity of polyclonal IgGs: a putative serological marker. *Immunol. Res*. 2013; Vol. 56, №2-3: 457–464.

55. Wen F et al. Extracellular DNA in pancreatic cancer promotes cell invasion and metastasis. *Cancer Res*. 2013; 73 (14): 4256–4266.

Сведения об авторах

Жерулик Софья Валерьевна – старший преподаватель кафедры онкологии с курсом ФПК и ПК ВГМУ. 210603, г. Витебск, ул. П. Бровки, 33, polozkaya@tut.by, 8-0212-48-20-35.

Луд Николай Григорьевич – зав. кафедрой онкологии с курсом ФПК и ПК ВГМУ, д-р. мед. наук, профессор; 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, vsmu.oncology@gmail.com. 8-0212-48-20-35.

Генералов Игорь Иванович – зав. кафедрой клинической микробиологии ВГМУ, д-р. мед. наук, профессор. 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, g2@tut.by, 8-0212-64-81-75.

Поступила 5.09.2022 г.