Архив патологии
2025, т. 87, №2, с. 5–10
https://doi.org/10.17116/patol2025870215

Russian Journal of Archive of Patology
2025, vol. 87, no. 2, pp. 5–10
https://doi.org/10.17116/patol2025870215

Влияние ацетиламидного синтетического пептида HLDF-6 на дифференцировку клеток при раке молочной железы

© А.А. СТУДЕНИКИНА[1, 2], Е.Д. МАНГАЗЕЕВА[1], А.П. БОГАЧУК[3], В.М. ЛИПКИН[3], А.И. АУТЕНШЛЮС[1, 2]

[1]ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, Новосибирск, Россия;
[2]Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск, Россия;
[3]ФГБУН «Государственный научный центр Российской Федерации Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Разработка средств, обладающих способностью повышать дифференцировку и снижать злокачественный потенциал опухоли, является одним из перспективных направлений в терапии рака молочной железы (РМЖ). В качестве такого средства может быть использован Human Leukemia Differentiation Factor (HLDF) — белок, состоящий из 54 аминокислот и способствующий повышению степени дифференцировки клеток инвазивной протоковой карциномы молочной железы. Ключевой недостаток полноразмерного HLDF — его быстрая биодеградация, в связи с чем для защиты от гидролиза была синтезирована ацетиламидная форма пептида (HLDF-6).

Цель исследования. Оценка влияния HLDF-6 на дифференцировку клеток при различных молекулярно-биологических подтипах РМЖ.

Материал и методы. Проведена оценка относительного содержания опухолевых клеток различной степени дифференцировки в биоптатах 33 женщин с РМЖ при воздействии на опухоль HLDF-6.

Результаты. HLDF-6 значительно увеличивает относительное содержание дифференцированных клеток при люминальном B HER2-отрицательном подтипе РМЖ, не оказывая существенного влияния на клетки пациенток с люминальным A и базальноподобным подтипами.

Заключение. Исследование выявило перспективность использования HLDF-6 в рамках дифференцирующей терапии у пациенток с люминальным B HER2-отрицательным подтипом РМЖ.

Ключевые слова: *рак молочной железы, молекулярные подтипы, фактор дифференцировки.*

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:
Студеникина А.А. — https://orcid.org/0000-0003-3936-1316
Мангазеева Е.Д. — https://orcid.org/0009-0005-3916-0233
Богачук А.П. — https://orcid.org/0000-0003-3362-8286
Липкин В.М. — https://orcid.org/0000-0002-6400-6714
Аутеншлюс А.И. — https://orcid.org/0000-0001-7180-010X
Автор, ответственный за переписку: Студеникина А.А. — e-mail: aastudenikina@frcftm.ru

КАК ЦИТИРОВАТЬ:
Студеникина А.А., Мангазеева Е.Д., Богачук А.П., Липкин В.М., Аутеншлюс А.И. Влияние ацетиламидного синтетического пептида HLDF-6 на дифференцировку клеток при раке молочной железы. *Архив патологии.* 2025;87(2):5–10.
https://doi.org/10.17116/patol2025870215

The effect of acetylamide synthetic peptide HLDF-6 on cell differentiation in breast cancer

© A.A. STUDENIKINA[1, 2], E.D. MANGAZEEVA[1], A.P. BOGACHUK[3], V.M. LIPKIN[3], A.I. AUTENSHLYUS[1, 2]

[1]Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russia;
[2]Institute of Molecular Biology and Biophysics of Federal Research Center of Fundamental and Translational Medicine, Novosibirsk, Russia;
[3]Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Moscow, Russia

ABSTRACT

The development of drugs with the ability to increase differentiation and reduce tumor malignancy is one of the promising directions in the treatment of breast cancer (BC). As such, Human Leukemia Differentiation Factor (HLDF), a protein consisting of 54 amino acids and contributing to an increase in the degree of differentiation of invasive ductal breast carcinoma cells, can be used. The key disadvantage of the full-size HLDF is its rapid biodegradation. In this connection, the acetylamide form of the peptide (HLDF-6) was synthesized to protect against hydrolysis.

Objective. To evaluate the effect of HLDF-6 on cell differentiation in various molecular biological subtypes of breast cancer.

Material and methods. The relative content of tumor cells of various degrees of differentiation in biopsies of 33 women with breast cancer when exposed to HLDF-6 tumor was evaluated.

Results. HLDF-6 significantly increases the relative content of differentiated cells in the luminal B HER2-negative subtype of breast cancer, without significantly affecting the cells of patients with luminal A and basal-like subtypes.
Conclusion. The study revealed the prospects of using HLDF-6 as part of differentiating therapy in patients with luminal B HER2-negative subtype of breast cancer.

Keywords: *breast cancer, molecular subtypes, differentiation factor.*

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:
Studenikina A.A. — https://orcid.org/0000-0003-3936-1316
Mangazeeva E.D. — https://orcid.org/0009-0005-3916-0233
Bogachuk A.P. — https://orcid.org/0000-0003-3362-8286
Lipkin V.M. — https://orcid.org/0000-0002-6400-6714
Autenshlyus A.I. — https://orcid.org/0000-0001-7180-010X
Corresponding author: Studenikina A.A. — e-mail: aastudenikina@frcftm.ru

TO CITE THIS ARTICLE:
Studenikina AA, Mangazeeva ED, Bogachuk AP, Lipkin VM, Autenshlyus AI. The effect of acetylamide synthetic peptide HLDF-6 on cell differentiation in breast cancer. *Russian Journal of Archive of Pathology*. 2025;87(2):5–10. (In Russ.). https://doi.org/10.17116/patol2025870215

Современные подходы к терапии рака молочной железы (РМЖ) предусматривают индивидуальный подход к каждой пациентке с учетом стадии и распространенности процесса, молекулярно-биологического подтипа опухоли [1, 2]. В последние годы разрабатываются альтернативные методы лечения злокачественных новообразований, в том числе дифференцирующая терапия, которая вместо «уничтожения» опухолевых клеток направлена на их «созревание», повышая дифференцировку и снижая злокачественность [3], что может значительно уменьшить побочные эффекты и улучшить качество жизни пациенток [4]. Дополнительным преимуществом дифференцирующей терапии является ее способность преодолевать резистентность опухолевых клеток, снижая их агрессивность и делая опухоль более чувствительной к классической противоопухолевой терапии [5].

Одним из таких дифференцирующих агентов является белок HLDF, который индуцирует не только дифференцировку клеток линии HL-60 промиелоцитарного лейкоза человека в фенотипически зрелые гранулоциты, но и апоптоз, а также подавляет синтез ДНК в культуре этих клеток [6]. Было показано, что HLDF способствует повышению степени дифференцировки клеток инвазивной протоковой карциномы молочной железы, что позволяет рассматривать этот фактор в качестве кандидата для дифференцирующей терапии злокачественных новообразований [7]. Однако полноразмерный HLDF обладает низкой устойчивостью в организме — его период полужизни в плазме крови крысы составляет всего 2 мин. Для защиты от гидролиза была синтезирована ацетиламидная форма пептида HLDF-6, обладающая более длительным периодом полужизни по сравнению с нативной формой [8], при этом действие HLDF-6 на опухолевый процесс в молочной железе остается неизвестным. В связи с чем цель исследования — сравнительная оценка влияния ацетиламидного синтетического пептида HLDF-6 на дифференцировку клеток при различных молекулярно-биологических подтипах РМЖ.

Материал и методы

Изучены биоптаты 33 женщин с РМЖ в возрасте от 33 до 77 лет (средний возраст 62 года), находившихся на лечении в маммологическом отделении Городской клинической больницы №1 Новосибирска. Критерии включения: РМЖ, гистологический тип — инвазивная протоковая карцинома неспецифицированная, размер опухоли T1 и T2, степень дифференцировки опухоли G2, отсутствие неоадъювантной терапии до взятия материала на исследование и онкологических заболеваний другой локализации, а также 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.

Полученные от пациенток биоптаты объемом 8 мм^3 помещали в 2 флакона и инкубировали при 37°C в течение 72 ч: в первом флаконе был биоптат с 1 мл среды DMEM-F12 (клетки без инкубации), во втором биоптат инкубировали в 1 мл среды DMEM-F12 с добавлением 20 мкг HLDF-6 (клетки, инкубированные с HLDF-6).

Для проведения патогистологического исследования в соответствии со стандартной методикой гистологические срезы толщиной 4—5 мкм подготавливали и окрашивали гематоксилином и эозином. Для оценки относительного содержания опухолевых клеток различной степени дифференцировки в образцах определяли такие цитоморфологические критерии, как степень выраженности ядерного полиморфизма, ядерной атипии и величины ядерно-цитоплазматического отношения с учетом Ноттингемской градирующей системы [9], что представлено на **рис. 1**.

Статистическую обработку проводили с использованием SPSS 22. Для сравнения независимых групп использовали *U*-критерий Манна–Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p<0,05$. Результаты исследования представлены как медиана (Me) и интерквартильный размах (Q_1—Q_3).

Результаты и обсуждение

Пациенток с РМЖ разделили на 3 группы согласно молекулярно-биологическому подтипу [10], данные представлены в **таблице**, ввиду малого количества пациенток с люминальным B HER2-положительным и HER2-положительным подтипами эти пациентки не вошли в исследование.

Молекулярно-биологические подтипы пациенток с РМЖ

Molecular biological subtypes of patients with breast cancer

Группа	Молекулярно-биологический подтип	ER	PR	HER2	Ki-67,%	Возраст, лет
Люм А, *n*=14	Люминальный А	+	+/–	–	Менее 20	62 (44—77)
Люм В, *n*=12	Люминальный В HER2-отрицательный	+	+/–	–	20 и более	60 (33—74)
Баз, *n*=7	Базальноподобный	–	–	–	40—95	60 (47—72)

Примечание. ER — рецептор эстрогена; PR — рецептор прогестерона; HER2 — 2-й рецептор эпидермального фактора роста человека; Ki-67 — антиген, определяющийся в делящихся клетках.



***Рис. 1.* Критерии оценки степени дифференцировки опухолевых клеток.**

***Fig. 1.* Criteria for assessing the degree of tumor cells differentiation.**

Исследование показало, что синтетический пептид HLDF-6 оказывает значительное влияние на клетки пациенток с люминальным В HER2-отрицательным подтипом, увеличивая относительное содержание дифференцированных клеток **(рис. 2, а, рис. 3, в)** и снижая относительное содержание низкодифференцированных клеток **(см. рис. 2, б, рис. 3, г)**. При этом HLDF-6 не оказывает существенного влияния на клетки пациенток с люминальным А и базальноподобным молекулярным подтипами **(см. рис. 2, 3)**.

По данным нашего исследования, базальноподобный подтип РМЖ характеризуется высоким относительным содержанием низкодифференцированных клеток как до, так и после воздействия HLDF-6. Возможной причиной отсутствия эффекта пептида может быть генетическая нестабильность этой группы опухолей, которая отличается наиболее агрессивным течением и наихудшим прогнозом [11].

В противоположность этому люминальный А подтип изначально ассоциируется с низкой степенью злокачественности опухоли. Наше исследование подтверждает высокое относительное содержание дифференцированных клеток в образцах опухоли люминального А подтипа как до, так и после воздействия HLDF-6. Хотя статистически значимого эффекта воздействия пептида не было зафиксировано, тем не менее наблюдалась положительная тенденция к снижению низкодифференцированных клеток.

Люминальный В HER2-отрицательный подтип связан с более агрессивным течением заболевания, частой резистентностью к системной терапии и худшими исходами по сравнению с люминальным А подтипом [12]. Следует отметить, что уровень экспрессии Ki-67 является основным индикатором, используемым для дифференциации люминального А и люминального В (HER2-отрицательного) подтипов, которые требуют различных подходов к лечению [13]. Результаты нашего исследования показывают статистически

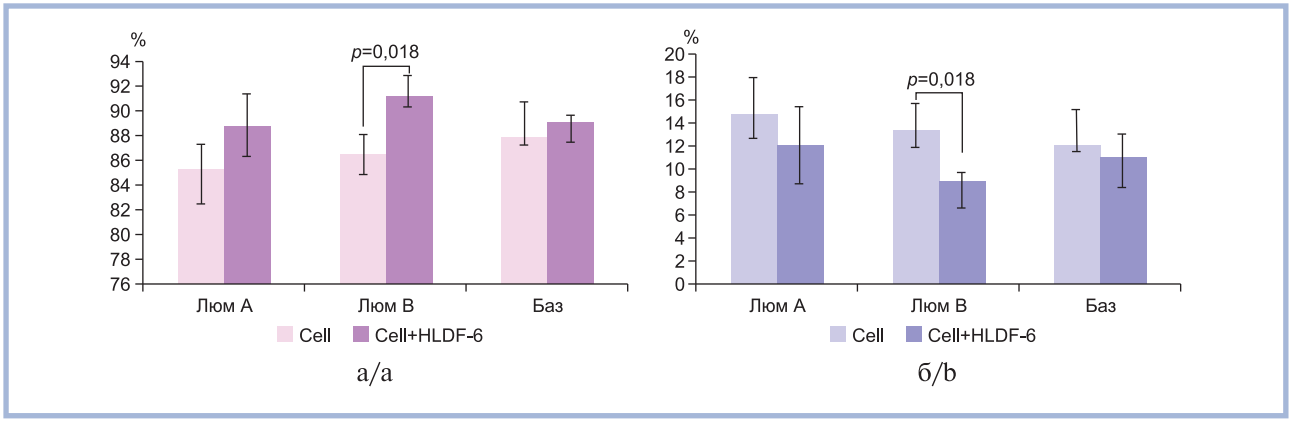

***Рис. 2.* Относительное содержание клеток до и после инкубации с HLDF-6 у пациенток с тремя молекулярными подтипами РМЖ.**

а — дифференцированные клетки; б — низкодифференцированные клетки. Cell — клетки без инкубации с HLDF-6; Cell+HLDF-6 — клетки, инкубированные с HLDF-6.

***Fig. 2.* Relative cell content before and after incubation with HLDF-6 in patients with three molecular subtypes of breast cancer.**

a — differentiated cells; b — low-differentiated cells. Cell — cells without incubation with HLDF-6; Cell+HLDF-6 — cells incubated with HLDF-6.

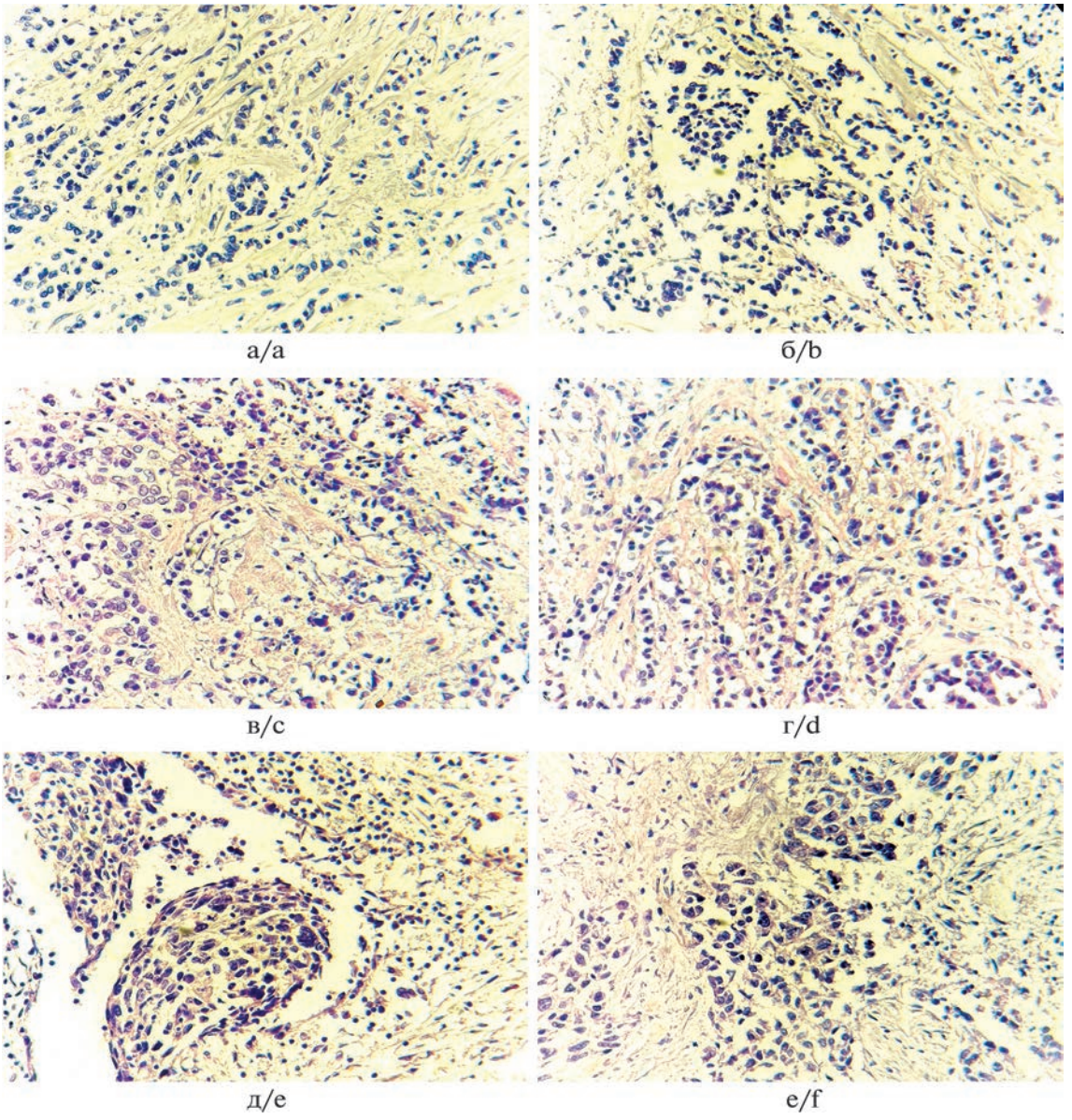

Рис. 3. **Морфология биоптатов РМЖ до и после влияния HLDF-6.**

а — опухоль без воздействия HLDF-6 (Люм А); б — опухоль, инкубированная с HLDF-6 (Люм А); в — опухоль без воздействия HLDF-6 (Люм В); г — опухоль, инкубированная с HLDF-6 (Люм В); д — опухоль без воздействия HLDF-6 (Баз); е — опухоль, инкубированная с HLDF-6 (Баз), ×400.

Fig. 3. **Fig. 3. Morphology of breast cancer biopsies before and after the influence of HLDF-6.**

a — tumor without exposure to HLDF-6 (Lum A); b — tumor incubated with HLDF-6 (Lum A); c — tumor without exposure to HLDF-6 (Lum B); d — tumor incubated with HLDF-6 (Lum B); e — tumor without exposure to HLDF-6 (Bas); f — tumor incubated with HLDF-6 (Bas). ×400.

значимый эффект воздействия HLDF-6 на опухолевые клетки пациенток с люминальным В HER2-отрицательным подтипом, что схематично представлено на **рис. 4** и, возможно, связано с комплексным влиянием пептида на экспрессию маркера пролиферации Ki-67.

Заключение

Актуальность дифференцирующей терапии РМЖ обусловлена ее способностью обеспечить персонализированное, менее токсичное и эффективное лечение, особенно для пациенток с устойчивыми формами рака [3—5]. Разработка и внедрение новых дифференцирующих агентов представляют собой перспективное направление в современной онкологии, способное значительно улучшить исходы лечения и качество жизни пациенток с РМЖ. Настоящее исследование показало, что применение HLDF-6 приводит к значительному увеличению относительного содержания дифференцированных клеток при люминальном В подтипе РМЖ, что свидетельствует о снижении злокачественности этого подтипа и позволяет



***Рис. 4.* Влияние HLDF-6 на клетки пациенток с люминальным B HER2-отрицательным подтипом РМЖ.**
Представлено схематическое отображение влияния ацетиламидной формы HLDF-6 на клетки при люминальном B HER2-отрицательном подтипе: снижение содержания низкодифференцированных клеток и повышение дифференцированных.

***Fig. 4.* The effect of HLDF-6 on the cells of patients with luminal B HER2-negative breast cancer subtype.**
The figure shows a schematic representation of the effect of the acetylamide form of HLDF-6 on cells with the luminal B HER2-negative subtype, namely, a decrease in low-differentiated cells and an increase in differentiated.

рассматривать синтетический фактор дифференцировки HLDF-6 как перспективное средство для дифференцирующей терапии у пациенток с люминальным B подтипом РМЖ.

Участие авторов:
Концепция и дизайн исследования — Студеникина А.А., Аутеншлюс А.И.
Сбор и обработка материала — Мангазеева Е.Д., Богачук А.П., Липкин В.М.
Статистическая обработка — Студеникина А.А.
Написание текста — Студеникина А.А., Мангазеева Е.Д.
Редактирование — Аутеншлюс А.И.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflicts of interest.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Bright EE, Finkelstein LB, Nealis MS, Genung SR, Wrigley J, Gu HCJ, Schmiege SJ, Arch JJ. A systematic review and meta-analysis of interventions to promote adjuvant endocrine therapy adherence among breast cancer survivors. *J Clin Oncol*. 2023;41(28):4548-4561. https://doi.org/10.1200/JCO.23.00697
2. Gradishar WJ, Moran MS, Abraham J, Aft R, Agnese D, Allison KH, Blair SL, Burstein HJ, Dang C, Elias AD, et al. NCCN Guidelines® Insights: breast cancer, version 4.2021. *J Natl Compr Canc Netw*. 2021;19(5):484-493. https://doi.org/10.6004/jnccn.2021.0023
3. Fotinós J, Barberis L, Condat CA. Effects of a differentiating therapy on cancer-stem-cell-driven tumors. *J Theor Biol*. 2023;572:111563. https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2023.111563
4. Yan M, Liu Q. Differentiation therapy: a promising strategy for cancer treatment. *Chin J Cancer*. 2016;35:3. https://doi.org/10.1186/s40880-015-0059-x
5. Bar-Hai N, Ishay-Ronen D. Engaging plasticity: differentiation therapy in solid tumors. *Front Pharmacol*. 2022;13:944773. https://doi.org/10.3389/fphar.2022.944773
6. Аутеншлюс А.А., Жураковский И.П., Михайлова Е.С., Давлетова К.И., Бернадо А.В., Студенкина А.А., Проскура А.В., Сидоров С.В., Маринкин И.О., Ляхович В.В., Богачук А.П., Липкин В.М. *Средство, снижающее относительное содержание низкодифференцированных и повышающее относительное содержание высокодифференцированных клеток в инвазивной карциноме молочной железы неспецифического типа*. Патент РФ на изобретение №2743710/24.02.2021. Бюллетень №6 (Ссылка активна на 20.06.2024).
Autenshlyus AA, Zhurakovskii IP, Mikhailova ES, Davletova KI, Bernado AV, Studenkina AA, Proskura AV, Sidorov SV, Marinkin IO, Lyakhovich VV, Bogachuk AP, Lipkin VM. *Sredstvo, snizhayushchee otnositel'noe soderzhanie nizkodifferentsirovannykh i povyshayushchee otnositel'noe soderzhanie vysokodifferentsirovannykh kletok v invazivnoi kartsinome molochnoi zhelezy nespetsificheskogo tipa*. Patent RF na izobretenie №2743710/24.02.2021. Byulleten' №6. (In Russ.). Accessed 20.06.2024. https://searchplatform.rospatent.gov.ru/doc/RU2743710C1_20210224?q=&from=search_simple&hash=256003455
7. Autenshlyus AI, Zhurakovsky IP, Davletova KI, Bogachuk AP, Lyakhovich VV, Lipkin VM. Influence of HLDF differentiation factor on nonspecific invasive breast carcinoma in vitro. *Dokl Biochem Biophys*. 2020;495(1):289-291. https://doi.org/10.1134/S1607672920060010
8. Аутеншлюс А.А., Жураковский И.П., Маринкин И.О., Богачук А.П., Липкин В.М. *Средство, снижающее относительное содержание низкодифференцированных и повышающее относительное содержание высокодифференцированных клеток в инвазивной карциноме молочной железы неспецифического типа*. Патент РФ на изобретение №2786528/ 21.12.2022. Бюллетень №36. (Ссылка активна на 20.06.2024).
Autenshlyus AA, Zhurakovskii IP, Marinkin IO, Bogachuk AP, Lipkin VM. *Sredstvo, snizhayushchee otnositel'noe soderzhanie nizkodifferentsirovannykh i povyshayushchee otnositel'noe soderzhanie vysokodifferentsirovannykh kletok v invazivnoi kartsinome molochnoi zhelezy nespetsificheskogo tipa*. Patent RF na izobretenie №2786528/21.12.2022. Byulleten' №36. Accessed 20.06.2024. https://searchplatform.rospatent.gov.ru/doc/RU2786528C1_20221221?q=&from=search_simple&hash=1258907589
9. Rakha EA, Reis-Filho JS, Baehner F, Dabbs DJ, Decker T, Eusebi V, Fox SB, Ichihara S, Jacquemier J, Lakhani SR, et al. Breast

cancer prognostic classification in the molecular era: the role of histological grade. *Breast Cancer Res*. 2010;12(4):207. https://doi.org/10.1186/bcr2607

10. Тюляндин С.А., Артамонова Е.В., Жигулев А.Н., Королева И.А., Пароконная А.А., Семиглазова Т.Ю., Стенина М.Б., Фролова М.А. Рак молочной железы. *Злокачественные опухоли*. 2023;13(3s2-1):157-200.
Tyulyandin SA, Artamonova EV, Zhigulev AN, Koroleva IA, Parokonnaya AA, Semiglazova TYu, Stenina MB, Frolova MA. Breast cancer. *Malignant tumors*. 2023;13(3s2-1):157-200. (In Russ.).
https://doi.org/10.18027/2224-5057-2023-13-3s2-1-157-200

11. Zhang X. Molecular classification of breast cancer: relevance and challenges. *Arch Pathol Lab Med*. 2023;147(1):46-51. https://doi.org/10.5858/arpa.2022-0070-RA

12. Noske A, Anders SI, Ettl J, Hapfelmeier A, Steiger K, Specht K, Weichert W, Kiechle M, Klein E. Risk stratification in luminal-type breast cancer: comparison of Ki-67 with EndoPredict test results. *Breast*. 2020;49:101-107. https://doi.org/10.1016/j.breast.2019.11.004

13. Jin X, Zhou YF, Ma D, Zhao S, Lin CJ, Xiao Y, Fu T, Liu CL, Chen YY, Xiao WX, et al. Molecular classification of hormone receptor-positive HER2-negative breast cancer. *Nat Genet*. 2023; 55(10):1696-1708. https://doi.org/10.1038/s41588-023-01507-7

Поступила 26.06.2024
Received 26.06.2024
Принята в печать 18.12.2024
Accepted 18.12.2024