

# ИММУНО-ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ПРОЛИФЕРАЦИИ ОПУХОЛИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Глушков А.Н.<sup>1</sup>, Поленок Е.Г.<sup>1</sup>, Гордеева Л.А.<sup>1</sup>, Антонов А.В.<sup>2</sup>,  
Байрамов П.В.<sup>2</sup>, Вержбицкая Н.Е.<sup>2</sup>, Колпинский Г.И.<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук», г. Кемерово, Россия

<sup>2</sup> ГБУЗ «Кузбасский клинический онкологический диспансер имени М.С. Раппопорта», г. Кемерово, Россия

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет», г. Кемерово, Россия

<sup>4</sup> ГАУЗ «Клинический консультативно-диагностический центр имени И.А. Колпинского», г. Кемерово, Россия

**Резюме.** Известно, что пролиферация опухолевых клеток у больных раком молочной железы (РМЖ) регулируется половыми гормонами – эстрадиолом и прогестероном (Е2 и Рg). Кроме того, в сыворотке больных РМЖ были обнаружены аутоантитела, специфичные к эстрогеновому рецептору (ER $\alpha$ ), уровень которых прямо коррелировал с удельным весом клеток, экспрессирующих протеин Ki-67 – маркер пролиферации опухоли. Предположили, что роль аутоантител против мембранных стероидных рецепторов могут выполнять антиидиотипические антитела к Е2 и Рg (IgG<sub>2</sub>-Е2 и IgG<sub>2</sub>-Рg). Цель – исследовать ассоциации экспрессии Ki-67 в опухоли и содержания в сыворотке IgG<sub>2</sub>-Е2 и IgG<sub>2</sub>-Рg, а также стероидных гормонов Е2 и Рg у больных РМЖ. IgG<sub>2</sub>-Е2 и IgG<sub>2</sub>-Рg исследовали с помощью ELISA, используя в качестве адсорбированных антигенов моноклональные антитела против Е2 и Рg в сыворотке крови 373 больных ER<sup>+</sup> РМЖ I стадии и 379 – II-IV стадий. Концентрацию Е2 и Рg в сыворотке определяли с помощью тест-систем «ИммуноФА-Эстрадиол» и «ИммуноФА-Прогестерон» (ЗАО «НВО ИммуноТех», Россия). Содержание в опухоли Ki-67 анализировали стандартным иммуно-гистохимическим методом в Кемеровском онкологическом диспансере. Удельный вес опухолей с большим количеством клеток, экспрессирующих Ki-67 (Ki-67 > 30), у больных РМЖ II-IV стадий был выше, чем у больных I стадии (50,7% против 29,8%, p < 0,001). Эта закономерность была характерна для больных с одновременно низкими уровнями IgG<sub>2</sub>-Е2 и IgG<sub>2</sub>-Рg: 1) при низком содержании в сыворотке Е2 < 200 пмоль/л (50,9% против 21,3%, p < 0,001); 2) при высоком Е2 > 200 пмоль/л (74,2% против 34,1%, p = 0,003); 3) при низком Рg ≤ 600 пмоль/л (60,6% против 22,2%, p < 0,001); 4) при высоком Рg > 600 пмоль/л (58,5% против 30,8%, p = 0,02). Такого возрастания удельного веса Ki-67 > 30 опухолей не обнаружили у больных с одновременно высокими уровнями IgG<sub>2</sub>-Е2 и IgG<sub>2</sub>-Рg. Соответствующие показатели составили: 1) 36,9% против 22,0% (p = 0,14); 2) 48,4% против 34,5% (p = 0,08); 3) 34,0% против 27,7% (p = 0,75). Только у больных с Рg > 600 пмоль/л и одновременно

## Адрес для переписки:

Мун Стелла Андреевна  
ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр  
угля и углехимии Сибирского отделения Российской  
академии наук»  
650065, Россия, г. Кемерово, Ленинградский пр., 10.  
Тел.: 8 (3842) 57-50-79.  
E-mail: stellamun@yandex.ru

## Address for correspondence:

Stella A. Mun  
Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry  
10 Leningradsky Ave  
Kemerovo  
650065 Russian Federation  
Phone: +7 (3842) 57-50-79.  
E-mail: stellamun@yandex.ru

## Образец цитирования:

А.Н. Глушков, Е.Г. Поленок, Л.А. Гордеева,  
А.В. Антонов, П.В. Байрамов, Н.Е. Вержбицкая,  
Г.И. Колпинский «Иммуно-гормональная регуляция  
пролиферации опухоли у больных раком молочной  
железы» // Российский иммунологический журнал,  
2024. Т. 27, № 1. С. 33-48.  
doi: 10.46235/1028-7221-13990-IHR

© Глушков А.Н. и соавт., 2024  
Эта статья распространяется по лицензии  
Creative Commons Attribution 4.0

## For citation:

A.N. Glushkov, E.G. Polenok, L.A. Gordeeva, A.V. Antonov,  
P.V. Bayramov, N.E. Verzhbitskaya, G.I. Kolpinskiy  
“Immuno-hormonal regulation of tumor proliferation in breast  
cancer patients”, Russian Journal of Immunology/Rossiyskiy  
Immunologicheskii Zhurnal, 2024, Vol. 27, no. 1, pp. 33-48.  
doi: 10.46235/1028-7221-13990-IHR

© Glushkov A.N. et al., 2024  
The article can be used under the Creative  
Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.46235/1028-7221-13990-IHR

высокими уровнями IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg различия оказались статистически значимыми (48,1% против 26,6%,  $p = 0,01$ ). Антиидиотипические антитела к стероидным гормонам принимают участие регуляции пролиферации опухоли у больных РМЖ. Иммуноанализ IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg может быть использован в оценке прогноза пролиферативной активности РМЖ при его росте.

*Ключевые слова:* рак молочной железы, эстрадиол, прогестерон, антитела, анти-антитела, стероидные рецепторы

## IMMUNO-HORMONAL REGULATION OF TUMOR PROLIFERATION IN BREAST CANCER PATIENTS

Glushkov A.N.<sup>a</sup>, Polenok E.G.<sup>a</sup>, Gordeeva L.A.<sup>a</sup>, Antonov A.V.<sup>b</sup>,  
Bayramov P.V.<sup>b</sup>, Verzhbitskaya N.E.<sup>b</sup>, Kolpinskiy G.I.<sup>c,d</sup>

<sup>a</sup> Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Kemerovo, Russian Federation

<sup>b</sup> Kuzbass Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russian Federation

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

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

**Abstract.** It is well known that tumor cells proliferation is regulated by sex steroid hormones, estradiol and progesterone (E2 and Pg) in breast cancer patients (BCP). Moreover, specific auto-antibodies to estrogen receptor (ER $\alpha$ ) were detected in blood serum of BCP. Their levels positively correlated with the percentage of Ki-67 expressing breast cancer cells. We proposed that antiidiotypic auto-antibodies to E2 and Pg (IgG<sub>2</sub>-E2 and IgG<sub>2</sub>-Pg) could act as antibodies against membrane ER and progesterone receptor (PR). Our study aimed for research of IgG<sub>2</sub>-E2 and IgG<sub>2</sub>-Pg according to E2 and Pg serum levels in association with Ki-67 positive tumors in BCP. Antiidiotypic antibodies were studied in ER-positive patients with breast cancer (stage I,  $n = 374$ , and stage II-IV,  $n = 379$ ), using ELISA technique with monoclonal antibodies against E2 and Pg as adsorbed antigens. Blood serum concentrations of E2 and Pg were measured using “ImmunoEA-Estradiol” and “ImmunoEA-Progesterone” test-systems (“Immunotech”, Russia). Tumor Ki-67 was studied by standard immunohistochemical technique at the Kemerovo Oncological Hospital. Higher percentage of Ki-67 positive breast cancer cells (Ki-67 > 30) was increased in BCP II-IV stages compared with stage I patients (50.7% vs 29.8%,  $p < 0,001$ ). Such increased values were detected for the BCP with low levels of both IgG<sub>2</sub>-E2 and IgG<sub>2</sub>-Pg antibodies in the following subgroups: 1) at low serum E2 concentration of  $\leq 200$  pmol/L (50.9% vs 21.3%,  $p < 0,001$ ); 2) at the E2 exceeding 200 pmol/L (74.2% vs 34.1%,  $p = 0,003$ ); 3) at the Pg levels under 600 pmol/L (60.6% vs 22.2%,  $p < 0,001$ ); 4) at Pg values exceeding 600 pmol/L (58.5% vs 30.8%,  $p = 0,02$ ). Similar differences were not revealed between stage II-IV and stage I BCP with low levels of both IgG<sub>2</sub>-E2 and IgG<sub>2</sub>-Pg. Corresponding Ki-67 > 30 indices were as follows: 1) 36.9% vs 22.0% ( $p = 0,14$ ); 2) 48.4% vs 34.5% ( $p = 0,08$ ); 3) 34.0% vs 27.7% ( $p = 0,75$ ). Significant differences were detected in BCP with Pg > 600 pmol/L and high IgG<sub>2</sub>-E2 and IgG<sub>2</sub>-Pg levels only: 48.1% vs 26.6%, ( $p = 0,01$ ). Hence, antiidiotypic auto-antibodies to steroid hormones may participate in regulation of tumor proliferation in BCP. Immunoassay of IgG<sub>2</sub>-E2 and IgG<sub>2</sub>-Pg may be used for prognosis of tumor proliferation upon breast cancer progression.

*Keywords:* breast cancer, estradiol, progesterone, antibodies, anti-antibodies, steroid receptors

## Введение

Иммуногистохимический анализ маркера клеточной пролиферации протеина Ki-67, рецепторов эстрадиола и прогестерона (ER и PR) и рецептора эпидермального фактора роста (HER-2) широко применяется в диагностике молекулярно-биологического подтипа рака молочной железы (РМЖ) для выбора наиболее оптимальных

схем комбинированной терапии. Поэтому исследование внеклеточных факторов организма, регулирующих экспрессию указанных молекул в опухоли, представляет не только теоретический, но и сугубо практический интерес.

Общеизвестно участие половых стероидов в возникновении и росте РМЖ. В частности, показана стимуляция прогрессии РМЖ под действием эстрадиола (E2) и угнетение пролифера-

ции ER-экспрессирующих опухолевых клеток под действием прогестерона (Pg) [8, 11]. Наряду с хорошо изученными геномными эффектами известно и внегеномное действие стероидных гормонов, опосредованное мембранными ER и PR [5, 7].

Антитела против стероидных рецепторов также способны к внегеномному действию на клетки-мишени, как это было показано в ранее проведенных многочисленных экспериментах *in vitro* [9, 12]. Аутоантитела против ER обнаружены в сыворотке крови больных РМЖ [10]: они связывались с поверхностными ER и стимулировали пролиферацию опухолевых клеток мыши MCF-7 *in vitro*; их уровень превышал таковой у здоровых женщин и прямо коррелировал с количеством Ki-67 экспрессирующих клеток в опухоли. Однако функции аутоантител против PR, теоретически способных участвовать в регуляции пролиферативной активности опухоли, оставались неизвестными.

Роль антител против стероидных рецепторов могут выполнять антиидиотипические антитела к стероидным гормонам, как это было продемонстрировано в модельных экспериментальных *in vitro* [13]: антиидиотипические антитела к E2 действовали как агонисты E2 в культуре остеобластов. В нашей предыдущей статье были описаны особенности образования антиидиотипических антител, специфичных к моноклональным антителам против E2 и Pg (IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg), у здоровых женщин и больных РМЖ с ER<sup>+</sup>/PR<sup>+</sup> опухолями на I стадии [3]. Настоящая работа является продолжением начатых исследований с учетом предполагаемого взаимного влияния стероидных гормонов и соответствующих антиидиотипических антител на пролиферативную активность опухоли у больных РМЖ в начале заболевания и при распространенных опухолях.

**Цель** – исследовать ассоциации экспрессии Ki-67 в опухоли и содержания в сыворотке крови антиидиотипических аутоантител IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg, а также стероидных гормонов E2 и Pg у больных РМЖ.

## Материалы и методы

В настоящем исследовании приняли участие 898 женщин в постменопаузе. Все женщины впервые обратились в ГБУЗ «Кузбасский клинический онкологический диспансер имени М.С. Раппопорта» г. Кемерово. У всех женщин был первично установлен диагноз «инвазивная карцинома молочной железы неспецифического типа». Согласно TNM классификации у большинства женщин была выявлена I и II стадии заболевания (45,9% и 38,8% соответственно), III и IV стадии были выявлены у 14,2% и 1,1% женщин

соответственно. Наличие ER, PR и Ki-67 в опухолевых клетках определили с помощью стандартных иммуногистохимических методов в патологоанатомическом отделении онкодиспансера. Медиана возраста всех женщин составила 65 лет (интерквартильный размах 59-71).

Объектом для исследования послужила периферическая кровь, которую забирали в соответствии с этическими принципами Хельсинкской декларации (2013) и согласно «Правилами клинической практики в Российской Федерации» (Приказ Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003 г.). Все женщины, принявшие участие в настоящем исследовании, дали письменное информированное согласие на участие в нем.

Иммуноанализ антиидиотипических антител, специфичных к E2 и Pg (IgG<sub>2</sub>-E2, IgG<sub>2</sub>-Pg), проводили с помощью неконкурентного полуколичественного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов «ИммуноФА-Эстрадиол» и «ИммуноФА-ПГ» (ЗАО «НВО Иммунотех», Россия) с иммобилизованными на пластике моноклональными антителами против E2 в Pg согласно методике [2]. IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg, связавшиеся с моноклональными антителами против E2 и Pg, выявляли с помощью козьих антител против IgG человека, меченных пероксидазой хрена (Invitrogen, США), с разведением 1/30000. Оптическую плотность ферментативной реакции измеряли на фотометре Multiscan FC (Thermo Scientific, Финляндия) при длине волны 450 нм. Уровни IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg выражали в условных единицах (у. е.) и рассчитывали по формуле:

$$\text{IgG}_2\text{-X} = (\text{OD}_{\text{X-МАТ}} - \text{OD}_{\text{фон}}) / \text{OD}_{\text{фон}},$$

где X = E2 или Pg; OD<sub>X-МАТ</sub> – оптическая плотность связывания сывороточных антиидиотипических антител с моноклональными антителами (МАТ) против E2 или Pg, OD<sub>фон</sub> – оптическая плотность фонового связывания меченных пероксидазой хрена козьих антител против IgG человека с моноклональными антителами против E2 или Pg без добавления сыворотки крови.

Концентрацию стероидных гормонов (E2, Pg) определяли с помощью коммерческих наборов «ИммуноФА-Эстрадиол», «ИммуноФА-ПГ» (ЗАО «НВО Иммунотех», Россия) согласно инструкции по применению.

Обработку полученных данных осуществляли с помощью программы Statistica 8.0 (StatSoft Inc., США). Тип распределения исследуемых показателей оценивали с помощью W-критерия Шапиро–Уилка. Так как распределение показателей имело ненормальный характер, в дальнейшем использовали непараметрический критерий  $\chi^2$  с поправкой Йейтса на непрерывность вариации. Критический уровень значимости принимался

$p < 0,05$ . Пороги отсечения антител (cut-off value), по которым сравниваемые группы имели оптимальные различия, были рассчитаны с помощью ROC-анализа [6].

## Результаты

Сначала исследовали взаимосвязи уровней экспрессии маркера клеточной пролиферации, протеина Ki-67, со статусом стероидных рецепторов в опухоли у больных РМЖ. Полученные результаты представлены в таблице 1. Искомые взаимосвязи выявлены как при I стадии заболевания, так и при II-IV стадиях. У больных с ER<sup>+</sup>/PR<sup>+</sup> и ER<sup>+</sup>/PR<sup>-</sup> опухолями на I стадии низкие уровни Ki-67 (содержание Ki-67 положительных клеток  $\leq 14\%$ ) обнаружены в 41,6% и в 41,5% случаев, средние (15-30%) в 29,0% и 26,4%, высокие ( $> 30\%$ ) – в 29,4% и в 32,1%. То есть больные с ER<sup>+</sup>/PR<sup>+</sup> и ER<sup>+</sup>/PR<sup>-</sup> опухолями практически не имели различий по экспрессии Ki-67 ( $p = 0,89$ ).

В то же время каждая из этих подгрупп значительно различалась с больными с ER<sup>-</sup>/PR<sup>-</sup> опухолями, соответствующие значения Ki-67 в которой составили 15,4%, 71,8% и 12,8% ( $p = 0,001$ ).

Аналогичное отсутствие различий между больными ER<sup>+</sup>/PR<sup>+</sup> и ER<sup>+</sup>/PR<sup>-</sup> опухолями по уровням Ki-67 имело место при II-IV стадиях ( $p = 0,17$ ), в то время как каждая из этих подгрупп значительно отличалась от больных с ER<sup>-</sup>/PR<sup>-</sup> опухолями ( $p < 0,001$  и  $p = 0,03$  соответственно).

У женщин на II-IV стадиях заболевания, по сравнению с I стадией, удельный вес опухолей с низким уровнем Ki-67  $\leq 14$  значительно снижался, а с высоким Ki-67  $> 30$  повышался. Эти разли-

чия были характерными для больных с ER<sup>+</sup>/PR<sup>+</sup> опухолями ( $p < 0,001$ ), с ER<sup>+</sup>/PR<sup>-</sup> опухолями ( $p = 0,01$ ) и с ER<sup>-</sup>/PR<sup>-</sup> опухолями ( $p < 0,001$ ).

Отсутствие различий между больными с ER<sup>+</sup>/PR<sup>+</sup> и ER<sup>+</sup>/PR<sup>-</sup> опухолями по распределению уровней Ki-67 как при I стадии, так и II-IV стадиях процесса послужило основанием объединить их в отдельную когорту (ER<sup>+</sup>), в которой и были проведены запланированные исследования антиидиотипических антител и гормонов.

С помощью ROC-анализа рассчитали пороговые значения (cut-off) уровней исследуемых антител и концентраций гормонов в сыворотке крови, по которым больные ER<sup>+</sup> РМЖ с I стадией и низким уровнем Ki-67  $\leq 14$  имели наибольшие различия с таковыми при высоком уровне Ki-67  $> 30$  в опухоли. Исследование взаимосвязей между ними показало следующее (табл. 2). У больных РМЖ I стадии искомые взаимосвязи обнаружены только между уровнями IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg ( $p < 0,001$ ). Взаимосвязи между высокими и низкими уровнями IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg с высоким и низким содержанием E2 и Pg отсутствовали. Также не выявляли статистически достоверных связей между высоким и низким содержанием E2 и Pg.

У больных РМЖ на II-IV стадиях процесса также обнаружили искомые взаимосвязи между уровнями IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg ( $p = 0,02$ ) и, кроме того (в отличие от больных I стадией РМЖ) – между E2 и Pg ( $p = 0,009$ ).

Удельный вес больных с высокой концентрацией в сыворотке E2  $> 200$  пмоль/л при II-IV стадиях составлял 53,2%, а при I стадии – 40,6%, если уровень IgG<sub>2</sub>-E2 был высоким ( $p < 0,01$ ). Со-

**ТАБЛИЦА 1. ЧИСЛО (n) И ЧАСТОТА (%) ОБНАРУЖЕНИЯ ОПУХОЛЕЙ С РАЗЛИЧНЫМИ УРОВНЯМИ Ki-67 ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (РМЖ) I И II-IV СТАДИЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ER/PR СТАТУСА ОПУХОЛИ**

TABLE 1. CASES NUMBERS (n) AND FREQUENCIES (%) OF TUMORS WITH DIFFERENT LEVELS OF Ki-67 EXPRESSING CELLS IN THE BREAST CANCER PATIENTS (BCP) I AND II-IV STAGES DEPENDING ON TUMOR ER/PR STATUS

ER/PR	РМЖ I стадия BCP I stage (n = 412)			РМЖ II-IV стадии BCP II-IV stages (n = 486)			$\chi^2$ (p), df = 2
	Ki-67 $\leq 14$	Ki-67 15-30	Ki-67 $> 30$	Ki-67 $\leq 14$	Ki-67 15-30	Ki-67 $> 30$	
	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	
1. ER <sup>+</sup> /PR <sup>+</sup>	133/41,6	93/29,0	94/29,4	83/26,2	79/24,9	155/48,9	27,6 (< 0,001)
2. ER <sup>+</sup> /PR <sup>-</sup>	22/41,5	14/26,4	17/32,1	16/25,8	9/14,5	37/59,7	8,8 (0,01)
3. ER <sup>-</sup> /PR <sup>-</sup>	6/15,4	28/71,8	5/12,8	11/10,3	17/15,9	79/73,82	48,1 (< 0,001)
$\chi^2$ (p), df = 4 1-2-3	30,0 (< 0,001)			23,0 (< 0,001)			–
$\chi^2$ (p), df = 2 1-2	0,2 (0,89)			3,6 (0,17)			–
$\chi^2$ (p), df = 2 1-3	28,4 (< 0,001)			21,0 (< 0,001)			–
$\chi^2$ (p), df = 2 2-3	18,7 (< 0,001)			7,1 (0,03)			–

ответствующие показатели с  $E2 > 200$  пмоль/л проявились и у больных с высоким уровнем  $IgG_2-Pg$  (49,5% против 36,3%,  $p < 0,01$ ). При низких уровнях антител различия по  $E2$  между стадиями отсутствовали.

В основном разделе настоящей работы исследовали взаимосвязи экспрессии  $Ki-67$  в опухоли с одной стороны и уровнями  $E2$ ,  $Pg$ ,  $IgG_2-E2$  и  $IgG_2-Pg$  – с другой. При этом учитывали особенности экспрессии  $Ki-67$  у больных с II-IV стадиями РМЖ по сравнению с I стадией.

В таблице 3 показаны удельные веса больных с низкими, средними и высокими уровнями экспрессии  $Ki-67$  в опухоли при низких и высоких концентрациях  $E2$  и  $Pg$ , а также при их четырех

возможных индивидуальных комбинациях. Искомых взаимосвязей между  $Ki-67$  и  $E2$  не обнаружили ни у больных с I стадией РМЖ ( $p = 0,14$ ), ни у больных с II-IV стадиями ( $p = 0,09$ ). Низкий удельный вес больных с низким уровнем  $Ki-67 \leq 14$  и, соответственно, высокий удельный вес больных с высоким уровнем  $Ki-67 > 30$  при II-IV стадиях по сравнению с I стадией имели место как при низком, так и при высоком содержании  $E2$  в сыворотке крови ( $p < 0,001$  и  $p = 0,003$  соответственно).

У больных с I стадией РМЖ и низким уровнем  $Ki-67 \leq 14$  высокие концентрации  $Pg$  встречались реже, чем низкие (34,8% и 49,7%) и, наоборот, при высоких уровнях  $Ki-67 > 30$  эти показатели соста-

**ТАБЛИЦА 2. ЧИСЛО (n) И ЧАСТОТА (%) ОБНАРУЖЕНИЯ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ КОМБИНАЦИЙ НИЗКИХ ( $\leq$ ) И ВЫСОКИХ ( $>$ ) УРОВНЕЙ ИССЛЕДУЕМЫХ АНТИИДИОТИПИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ ( $IgG_2-E2$  И  $IgG_2-Pg$ , у. е.) И ГОРМОНОВ ( $E2$  И  $Pg$ , пмоль/л) В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ  $ER^+$  РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (РМЖ) I И II-IV СТАДИЙ**

TABLE 2. CASES NUMBERS (n) AND FREQUENCIES (%) OF PERSONAL COMBINATIONS OF LOW ( $\leq$ ) AND HIGH ( $>$ ) LEVELS OF STUDIED ANTIIDOTYPIC ANTIBODIES ( $IgG_2-E2$  AND  $IgG_2-Pg$ , c. u.) AND HORMONES ( $E2$  AND  $Pg$ , pmol/L) IN THE BLOOD SERUM OF  $ER^+$  BREAST CANCER PATIENTS (BCP) I AND II-IV STAGES

Антитела, гормоны Antibodies, hormones	РМЖ $ER^+$ I стадия BCP $ER^+$ I stage (n = 373)						
	$IgG_2-Pg$		$E2$		$Pg$		
	$\leq 2,5$	$> 2,5$	$\leq 200$	$> 200$	$\leq 600$	$> 600$	
	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	
1.1. $IgG_2-E2 \leq 3,5$	88/61,1	56/38,9	88/61,1	56/38,9	60/41,7	84/58,3	
1.2. $IgG_2-E2 > 3,5$	92/40,2	137/59,8	136/58,4	93/40,6	109/47,6	120/52,4	
$\chi^2$ (p), df = 1	14,7 (< 0,001)		0,1 (0,82)		1,0 (0,31)		
2.1. $IgG_2-Pg \leq 2,5$	–	–	101/56,1	79/43,9	80/44,4	100/55,6	
2.2. $IgG_2-Pg > 2,5$	–	–	123/63,7	70/36,3	89/46,1	104/53,9	
$\chi^2$ (p), df = 1			1,9 (0,16)		0,1 (0,83)		
3.1. $E2 \leq 200$	–	–	–	–	111/49,6	113/50,4	
3.2. $E2 > 200$	–	–	–	–	58/38,9	91/61,1	
$\chi^2$ (p), df = 1					3,7 (0,06)		
Антитела, гормоны Antibodies, hormones	РМЖ $ER^+$ II-IV стадии BCP $ER^+$ II-IV stages (n = 379)						
	1.1. $IgG_2-E2 \leq 3,5$	86/54,1	73/45,9	92/57,9	67/42,1	66/41,5	93/58,5
	1.2. $IgG_2-E2 > 3,5$	91/41,4	129/58,6	103/46,8	117/53,2	84/38,2	136/61,8
	$\chi^2$ (p), df = 1	5,5 (0,02)		4,1 (0,04)		0,3 (0,58)	
2.1. $IgG_2-Pg \leq 2,5$	–	–	93/52,5	84/47,5	67/37,9	110/62,1	
2.2. $IgG_2-Pg > 2,5$	–	–	102/50,5	100/49,5	83/41,1	119/58,9	
$\chi^2$ (p), df = 1			0,1 (0,77)		0,3 (0,59)		
3.1. $E2 \leq 200$	–	–	–	–	90/46,2	105/53,8	
3.2. $E2 > 200$	–	–	–	–	60/32,6	124/67,4	
$\chi^2$ (p), df = 1					6,7 (0,009)		

вили, соответственно, 35,3% и 23,1% ( $p = 0,008$ ). Аналогичная ситуация, но менее статистически значимая ( $p = 0,046$ ) обнаружена и у больных с II-IV стадиями РМЖ. Снижение удельного веса больных низким уровнем Ki-67  $\leq 14$  и соответствующее повышение удельного веса больных с высоким уровнем Ki-67 у больных с II-IV стадиями РМЖ по сравнению с I стадией имели место как при низких, так и при высоких концентрациях Pg в сыворотке крови ( $p < 0,001$ ).

Анализ распределения больных РМЖ I стадией по уровням Ki-67 в опухоли и четырем возможным индивидуальным комбинациям низких и высоких концентраций E2 и Pg в сыворотке крови показал следующее. У больных с низким содержанием Pg и разными концентрациями E2 (позиции 3.1 и 3.2) опухоли с низким уровнем Ki-67  $\leq 14$  встречались в 51,4% и 46,6% случаев, а опухоли с высоким уровнем Ki-67  $> 30$  – в 20,7% и в 27,6% соответственно. У больных с высоким содержанием Pg и разными концентрациями E2 (позиции 3.3 и 3.4) соответствующие показатели

составили: 39,8% и 28,6% для Ki-67  $\leq 14$ ; 32,7% и 38,5% для Ki-67  $> 30$  ( $p < 0,05$ ). Наиболее выраженные различия были выявлены при сравнении позиций 3.1 и 3.4 ( $p = 0,003$ ).

У больных РМЖ II-IV стадией с низким содержанием Pg (позиции 3.1 и 3.2) удельный вес опухолей с высоким уровнем Ki-67  $> 30$  также был ниже (42,2% и 46,7%), чем при высоком содержании Pg (позиции 3.3 и 3.4: 54,3% и 55,6%). Статистически значимые различия проявились при сопоставлении позиций 3.1 и 3.4, как и при подобном анализе больных I стадией РМЖ.

Снижение удельного веса опухолей с низкими уровнями Ki-67  $\leq 14$  и соответствующее повышение удельного веса опухолей с высокими уровнями Ki-67  $> 30$  у больных с II-IV стадиями по сравнению с I стадией имело место с разной степенью статистической значимости (от  $p = 0,03$  до  $p < 0,001$ ) при любой из четырех индивидуальной комбинации высоких и низких концентраций E2 и Pg.

**ТАБЛИЦА 3. ЧИСЛО (n) И ЧАСТОТА (%) ОБНАРУЖЕНИЯ НИЗКИХ ( $\leq$ ) И ВЫСОКИХ ( $>$ ) УРОВНЕЙ ИССЛЕДУЕМЫХ ГОРМОНОВ (E2 и Pg, pmol/L) И ИХ КОМБИНАЦИЙ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ER<sup>+</sup> РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (РМЖ) I И II-IV СТАДИЙ В СООТВЕТСТВИИ С УРОВНЯМИ Ki-67 В ОПУХОЛИ**

TABLE 3. CASES NUMBERS (n) AND FREQUENCIES (%) OF LOW ( $\leq$ ) AND HIGH ( $>$ ) STUDIED HORMONES SERUM LEVELS (E2 AND Pg, pmol/L) AND THEIR COMBINATIONS IN I AND II-IV STAGES ER<sup>+</sup> BREAST CANCER PATIENTS (BCP) ACCORDING TO TUMOR Ki-67 LEVELS

Гормоны и их комбинации Hormones and their combinations	РМЖ ER <sup>+</sup> I стадия BCP ER <sup>+</sup> I stage (n = 373)			РМЖ ER <sup>+</sup> II-IV стадии BCP ER <sup>+</sup> II-IV stages (n = 379)			$\chi^2$ (p), df = 2
	Ki-67 $\leq 14$	Ki-67 15-30	Ki-67 $> 30$	Ki-67 $\leq 14$	Ki-67 15-30	Ki-67 $> 30$	
	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	
1.1. E2 $\leq 200$	102/45,5	62/27,7	60/26,8	46/23,6	54/27,7	95/48,7	27,8 (< 0,001)
1.2. E2 $> 200$	53/35,6	45/30,2	51/34,2	53/28,8	34/18,5	97/52,7	12,3 (0,003)
$\chi^2$ (p), df = 2	4,0 (0,14)			4,7 (0,09)			
2.1. Pg $\leq 600$	84/49,7	46/27,2	39/23,1	40/26,7	44/29,3	66/44,0	21,5 (< 0,001)
2.2. Pg $> 600$	71/34,8	61/29,9	72/35,3	59/25,8	44/19,2	126/55,0	17,2 (< 0,001)
$\chi^2$ (p), df = 2	9,8 (0,008)			6,2 (0,046)			
3.1. E2 $\leq 200$ + Pg $\leq 600$	57/51,4	31/27,9	23/20,7	25/27,8	27/30,0	38/42,2	14,4 (< 0,001)
3.2. E2 $> 200$ + Pg $\leq 600$	27/46,6	15/25,9	16/27,6	15/25,0	17/28,3	28/46,7	6,8 (0,03)
3.3. E2 $\leq 200$ + Pg $> 600$	45/39,8	31/27,4	37/32,7	21/20,0	27/25,7	57/54,3	12,9 (0,002)
3.4. E2 $> 200$ + Pg $> 600$	26/28,6	30/33,0	35/38,5	38/30,6	17/13,7	69/55,6	12,2 (0,003)
$\chi^2$ (p), df = 6 3.1-3.2-3.3-3.4	13,3 (< 0,05)			12,5 (> 0,05)			
$\chi^2$ (p), df = 2 3.1-3.4	12,2 (0,003)			8,8 (0,01)			

Анализ распределения низких и высоких уровней исследуемых антиидиотипических антител и их комбинаций у больных ER<sup>+</sup> РМЖ I и II-IV стадий в соответствии с уровнями Ki-67 показал следующее (табл. 4). Искомые взаимосвязи не были обнаружены у больных РМЖ в начале процесса (I стадия).

На II-IV стадиях заболевания с низким содержанием Ki-67 ≤ 14 в опухоли низкие уровни IgG<sub>2</sub>-E2 встречались реже (19,5%), а высокие – чаще (30,9%), и наоборот, при высоком содержании Ki-67 > 30 низкие уровни IgG<sub>2</sub>-E2 обнаруживали чаще, а высокие реже (57,2% против 45,9%, p = 0,03). Не выявили взаимосвязей с Ki-67 при анализе отдельно IgG<sub>2</sub>-Pg (позиции 2.1 и 2.2).

Вместе с тем при низком содержании Ki-67 ≤ 14 высокие уровни IgG<sub>2</sub>-E2 встречались чаще только в комбинации с высокими уровнями IgG<sub>2</sub>-Pg (34,1%) и реже при высоком содержании Ki-67 > 30 (42,6%). Статистически значимые различия обнаружены при сравнении одновременно высоких и одновременно низких уровней ис-

следуемых антител (позиции 3.4 и 3.1, p = 0,03). Такие же различия (p = 0,03) проявились при сравнении больных с одновременно высокими уровнями IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg с подгруппой, объединяющей позиции 3.1+3.2+3.3, т. е. при одновременно низких уровнях исследуемых антител или одного из них при высоком уровне другого.

У больных с II-IV стадией процесса опухоли с низким содержанием Ki-67 ≤ 14 обнаруживали реже, а с высоким Ki-67 > 30 чаще, чем у больных с I стадией независимо от уровней IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg и от их комбинаций. Исключение наблюдалось только при комбинации высоких уровней IgG<sub>2</sub>-E2 с низкими уровнями IgG<sub>2</sub>-Pg (позиция 3.2, p = 0,12). Однако при отсутствии статистической значимости тенденция к снижению удельного веса Ki-67 ≤ 14 опухолей и к повышению Ki-67 > 30 сохранялась.

Далее исследовали ассоциации Ki-67 в опухоли с антиидиотипическими антителами у больных РМЖ с различными концентрациями стероидных гормонов в сыворотке крови.

**ТАБЛИЦА 4. ЧИСЛО (n) И ЧАСТОТА (%) ОБНАРУЖЕНИЯ НИЗКИХ (≤) И ВЫСОКИХ (>) УРОВНЕЙ ИССЛЕДУЕМЫХ АНТИИДИОТИПИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ (IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg, у. е.) И ИХ КОМБИНАЦИЙ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ER<sup>+</sup> РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (РМЖ) I И II-IV СТАДИЙ В СООТВЕТСТВИИ С УРОВНЯМИ Ki-67 В ОПУХОЛИ**

TABLE 4. CASES NUMBERS (n) AND FREQUENCIES (%) OF LOW (≤) AND HIGH (>) LEVELS OF STUDIED SERUM ANTIIDIOTYPIC ANTIBODIES (IgG<sub>2</sub>-E2 AND IgG<sub>2</sub>-Pg, c. u.) AND THEIR COMBINATIONS IN I AND II-IV STAGES ER<sup>+</sup> BREAST CANCER PATIENTS (BCP) ACCORDING TO TUMOR Ki-67 LEVELS

Антитела и их комбинации Antibodies and their combinations	РМЖ ER <sup>+</sup> I стадия BCP ER <sup>+</sup> I stage (n = 373)			РМЖ ER <sup>+</sup> II-IV стадии BCP ER <sup>+</sup> II-IV stages (n = 379)			χ <sup>2</sup> (p), df = 2
	Ki-67 ≤ 14	Ki-67 15-30	Ki-67 > 30	Ki-67 ≤ 14	Ki-67 15-30	Ki-67 > 30	
	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	
1.1. IgG <sub>2</sub> -E2 ≤ 3,5	67/46,5	37/25,7	40/27,8	31/19,5	37/23,3	91/57,2	32,4 (< 0,001) 10,6 (0,005)
1.2. IgG <sub>2</sub> -E2 > 3,5	88/38,4	70/30,6	71/31,0	68/30,9	51/23,2	101/45,9	
χ <sup>2</sup> (p), df = 2	2,4 (0,29)			6,9 (0,03)			
2.1. IgG <sub>2</sub> -Pg ≤ 2,5	79/43,9	43/23,9	58/32,2	40/22,6	40/22,6	97/54,8	22,7 (< 0,001) 16,1 (< 0,001)
2.2. IgG <sub>2</sub> -Pg > 2,5	76/39,4	64/33,1	53/27,5	59/29,2	48/23,8	95/47,0	
χ <sup>2</sup> (p), df = 2	3,9 (0,14)			2,8 (0,25)			
3.1. IgG <sub>2</sub> -E2 ≤ 3,5 + IgG <sub>2</sub> -Pg ≤ 2,5	43/48,9	21/23,8	24/27,3	16/18,6	19/22,1	51/59,3	22,2 (< 0,001)
3.2. IgG <sub>2</sub> -E2 > 3,5 + IgG <sub>2</sub> -Pg ≤ 3,5	36/39,1	22/23,9	34/37,0	24/26,4	21/23,1	46/50,5	4,2 (0,12)
3.3. IgG <sub>2</sub> -E2 ≤ 3,5 + IgG <sub>2</sub> -Pg > 2,5	24/42,8	16/28,6	16/28,6	15/20,5	18/24,7	40/54,8	10,4 (0,006)
3.4. IgG <sub>2</sub> -E2 > 3,5 + IgG <sub>2</sub> -Pg > 2,5	52/38,0	48/35,0	37/27,0	44/34,1	30/23,3	55/42,6	8,1 (0,02)
χ <sup>2</sup> (p), df = 2 3.1-3.4	3,7 (0,16)			7,4 (0,03)			
χ <sup>2</sup> (p), df = 2 (3.1+3.2-3.3)-3.4	4,1 (0,13)			7,3 (0,03)			

По данным, представленным в таблице 5, видно, что при низких концентрациях  $E2 \leq 200$  пмоль/л таковые отсутствуют у больных I стадией РМЖ как при анализе  $IgG_2-E2$  и  $IgG_2-Pg$  по отдельности, так и в комбинациях. У больных с II-IV стадиями также не обнаружили взаимосвязей содержания Ki-67 в опухоли с уровнями антител по отдельности (позиции 1 и 2). В то же время у больных с низким содержанием в опухоли Ki-67  $\leq 14$  одновременно высокие уровни  $IgG_2-E2$  и  $IgG_2-Pg$  (позиция 3.4) встречались чаще (33,8%), а у больных с высоким Ki-67  $> 30$  – реже (36,9%), чем в случаях с одновременно низкими уровнями антител (позиция 3.1) или низким уровнем одного из них при высоком другого (позиции 3.2 и 3.3): меньше 19,0% и больше 50,0% соответственно). Статистически значимые различия ( $p = 0,03$ ) об-

наружены при сравнении позиции 3.4 с объединенной подгруппой 3.1+3.2+3.3.

Снижение удельного веса больных с низким содержанием Ki-67  $\leq 14$  и соответствующее повышение удельного веса с Ki-67  $> 30$  при II-IV стадиях по сравнению с I стадией имело место как при низких, так и при высоких уровнях антител (позиции 1 и 2), в том числе при их комбинациях 3.1, 3.2, и 3.3. При одновременно высоких уровнях  $IgG_2-E2$  и  $IgG_2-Pg$  (позиция 3.4) сохранялась такая же тенденция, хотя различия между больными с I и II-IV стадиями по этим показателям были статистически недостоверными ( $p = 0,14$ ).

У больных с высокими концентрациями  $E2 > 200$  пмоль/л (табл. 6) на I стадии РМЖ искомые ассоциации не были обнаружены как при анализе  $IgG_2-E2$  и  $IgG_2-Pg$  по-отдельности, так и в комбинациях их высоких и низких уровней. У

**ТАБЛИЦА 5. ЧИСЛО (n) И ЧАСТОТА (%) ОБНАРУЖЕНИЯ НИЗКИХ ( $\leq$ ) И ВЫСОКИХ ( $>$ ) УРОВНЕЙ ИССЛЕДУЕМЫХ АНТИИДИОТИПИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ ( $IgG_2-E2$  и  $IgG_2-Pg$ , у. е.) И ИХ КОМБИНАЦИЙ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ER+ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (РМЖ) I И II-IV СТАДИЙ С НИЗКИМ СОДЕРЖАНИЕМ В СЫВОРОТКЕ E2 (пмоль/л) В СООТВЕТСТВИИ С УРОВНЯМИ Ki-67 В ОПУХОЛИ**

TABLE 5. CASES NUMBERS (n) AND FREQUENCIES (%) OF LOW ( $\leq$ ) AND HIGH ( $>$ ) LEVELS OF STUDIED ANTIDIOTYPIC ANTIBODIES ( $IgG_2-E2$  AND  $IgG_2-Pg$ , c. u.) AND THEIR COMBINATIONS IN I AND II-IV STAGES ER+ BREAST CANCER PATIENTS (BCP) WITH LOW E2 SERUM CONCENTRATIONS (pmol/L) ACCORDING TO TUMOR Ki-67 LEVELS

Антитела и их комбинации Antibodies and their combinations	РМЖ ER+ I стадия BCP ER+ I stage (n = 373)			РМЖ ER+ II-IV стадии BCP ER+ II-IV stages (n = 379)			$\chi^2$ (p), df = 2
	Ki-67 $\leq 14$	Ki-67 15-30	Ki-67 $> 30$	Ki-67 $\leq 14$	Ki-67 15-30	Ki-67 $> 30$	
	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	
<b>E2 <math>\leq 200</math></b>							
1.1. $IgG_2-E2 \leq 3,5$	45/51,1	20/22,7	23/26,1	17/18,5	25/27,2	50/54,3	23,1 ( $< 0,001$ ) 7,9 (0,02)
1.2. $IgG_2-E2 > 3,5$	57/41,9	42/30,9	37/27,2	29/28,2	29/28,2	45/43,7	
$\chi^2$ (p), df = 2	2,3 (0,32)			3,1 (0,22)			
2.1. $IgG_2-Pg \leq 2,5$	49/48,5	23/22,8	29/28,7	17/18,3	27/29,0	49/52,7	20,7 ( $< 0,001$ ) 10,3 (0,006)
2.2. $IgG_2-Pg > 2,5$	53/43,1	39/31,7	31/25,2	29/28,4	27/26,5	46/45,1	
$\chi^2$ (p), df = 2	2,2 (0,33)			2,8 (0,25)			
3.1. $IgG_2-E2 \leq 3,5$ + $IgG_2-Pg \leq 2,5$	27/57,4	10/21,3	10/21,3	10/18,2	17/30,9	28/50,9	17,6 ( $< 0,001$ )
3.2. $IgG_2-E2 > 3,5$ + $IgG_2-Pg \leq 3,5$	22/40,7	13/24,1	19/35,2	7/18,4	10/26,3	21/55,3	5,6 (0,06)
3.3. $IgG_2-E2 \leq 3,5$ + $IgG_2-Pg > 2,5$	18/43,9	10/24,4	13/31,7	7/18,9	8/21,6	22/59,5	7,2 (0,03)
3.4. $IgG_2-E2 > 3,5$ + $IgG_2-Pg > 2,5$	35/42,7	29/35,4	18/22,0	22/33,8	19/29,2	24/36,9	3,9 (0,14)
$\chi^2$ (p), df = 2 (3.2+3.3)-3.4	4,0 (0,14)			6,5 (0,04)			
$\chi^2$ (p), df = 2 (3.1+3.2+3.3)-3.4	4,1 (0,13)			7,2 (0,03)			



больных с II-IV РМЖ не было ассоциаций каждого из них с содержанием в опухоли Ki-67 (позиции 1 и 2). В то же время опухоли с низким содержанием Ki-67  $\leq 14$  встречались реже (19,4%), а высоким Ki-67  $> 30$  – чаще (74,2%) при одновременно низких уровнях IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg (позиция 3.1), чем при трех других комбинациях (более 20,0% и менее 50% соответственно). Различия между показателями по позиции 3.1 и объединенной подгруппой (3.1+3.2+3.3) были статистически значимыми ( $p = 0,03$ ).

Между больными с II-IV и с I стадиями имела место тенденция к снижению удельного веса опухолей с Ki-67  $\leq 14$  и к соответствующему повышению такового с Ki-67  $> 30$  при любом уровне исследуемых антител, в том числе и при их комбинациях. Наибольшей значимости эти различия достигали при низких уровнях IgG<sub>2</sub>-E2, в том

числе в комбинации с низкими уровнями IgG<sub>2</sub>-Pg ( $p = 0,003$ , позиции 1.1 и 3.1 соответственно).

Анализ распределения больных по содержанию в опухоли Ki-67 с учетом разных уровней каждого из указанных антиидиотипических антител по-отдельности, в зависимости от концентрации E2 в сыворотке крови (позиции 1 и 2 в табл. 5 и 6), показал незначительное увеличение Ki-67 положительных клеток при высоких концентрациях E2 по сравнению с низким ( $p > 0,05$ ). Это было характерно как для I, так и для II-IV стадий РМЖ. В то же время у больных с II-IV стадиями РМЖ и одновременно низкими уровнями IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg с высоким содержанием в сыворотке E2 удельный вес опухолей с большим количеством Ki-67 положительных клеток был больше, чем у таковых с низким содержанием E2 (позиция 3.1 в таблицах 6 и 5: 74,2% против 50,9%;  $p = 0,03$ ).

**ТАБЛИЦА 6. ЧИСЛО (n) И ЧАСТОТА (%) ОБНАРУЖЕНИЯ НИЗКИХ ( $\leq$ ) И ВЫСОКИХ ( $>$ ) УРОВНЕЙ ИССЛЕДУЕМЫХ АНТИИДИОТИПИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ (IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg, у. е.) И ИХ КОМБИНАЦИЙ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ER<sup>+</sup> РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (РМЖ) I И II-IV СТАДИЙ С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ В СЫВОРОТКЕ E2 (пмоль/л) В СООТВЕТСТВИИ С УРОВНЯМИ Ki-67 В ОПУХОЛИ**

TABLE 6. CASES NUMBERS (n) AND FREQUENCIES (%) OF LOW ( $\leq$ ) AND HIGH ( $>$ ) LEVELS OF STUDIED ANTIIDIDIOTYPIC ANTIBODIES (IgG<sub>2</sub>-E2 AND IgG<sub>2</sub>-Pg, c. u.) AND THEIR COMBINATIONS IN I AND II-IV STAGES ER<sup>+</sup> BREAST CANCER PATIENTS (BCP) WITH HIGH E2 SERUM CONCENTRATIONS (pmol/L) ACCORDING TO TUMOR Ki-67 LEVELS

Антитела и их комбинации Antibodies and their combinations	РМЖ ER <sup>+</sup> I стадия BCP ER <sup>+</sup> I stage (n = 373)			РМЖ ER <sup>+</sup> II-IV стадии BCP ER <sup>+</sup> II-IV stages (n = 379)			$\chi^2$ (p), df = 2
	Ki-67 $\leq 14$	Ki-67 15-30	Ki-67 $> 30$	Ki-67 $\leq 14$	Ki-67 15-30	Ki-67 $> 30$	
	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	
<b>E2 &gt; 200</b>							
1.1. IgG <sub>2</sub> -E2 $\leq 3,5$	22/39,2	17/30,4	17/30,4	14/20,9	12/17,9	41/61,2	11,7 (0,003)
1.2. IgG <sub>2</sub> -E2 $> 3,5$	31/33,3	28/30,1	34/36,6	39/33,3	22/18,8	56/47,9	4,3 (0,12)
$\chi^2$ (p), df = 2	0,7 (0,69)			3,7 (0,15)			
2.1. IgG <sub>2</sub> -Pg $\leq 2,5$	30/38,0	20/25,3	29/36,7	23/27,4	13/15,5	48/57,1	6,9 (0,03)
2.2. IgG <sub>2</sub> -Pg $> 2,5$	23/32,9	25/35,7	22/31,4	30/30,0	21/21,0	49/49,0	6,4 (0,04)
$\chi^2$ (p), df = 2	1,9 (0,39)			1,4 (0,49)			
3.1. IgG <sub>2</sub> -E2 $\leq 3,5$ + IgG <sub>2</sub> -Pg $\leq 2,5$	16/39,0	11/26,8	14/34,1	6/19,4	2/6,5	23/74,2	11,8 (0,003)
3.2. IgG <sub>2</sub> -E2 $> 3,5$ + IgG <sub>2</sub> -Pg $\leq 3,5$	14/36,8	9/23,7	15/39,5	17/32,1	11/20,8	25/47,1	0,5 (0,77)
3.3. IgG <sub>2</sub> -E2 $\leq 3,5$ + IgG <sub>2</sub> -Pg $> 2,5$	6/40,0	6/40,0	3/20,0	8/22,2	10/27,8	18/50,0	4,0 (0,13)
3.4. IgG <sub>2</sub> -E2 $> 3,5$ + IgG <sub>2</sub> -Pg $> 2,5$	17/31,0	19/34,5	19/34,5	22/34,4	11/17,2	31/48,4	5,0 (0,08)
$\chi^2$ (p), df = 2 3.1-3.2	0,3 (0,88)			6,2 (0,045)			
$\chi^2$ (p), df = 2 (3.2+3.3+3.4)-3.1	0,4 (0,88)			7,3 (0,03)			

У больных с низкой концентрацией в сыворотке  $Pg \leq 600$  пмоль/л на I стадии РМЖ, как и в предыдущих случаях не обнаружили ассоциаций содержания в опухоли Ki-67 и исследуемых антител, в том числе и при их комбинациях (табл. 7). На II-IV стадиях высокие уровни  $IgG_2-E2$  встречались чаще, чем низкие, при низком содержании в опухоли  $Ki-67 \leq 14$  (35,7% против 15,2%) и, наоборот, реже при высоком  $Ki-67 > 30$  (34,5% против 56,0%,  $p = 0,008$ ). Такая закономерность проявлялась в комбинации низкими уровнями  $IgG_2-Pg$  (позиции 3.1-3.2,  $p = 0,04$ ) и сохранялась как тенденция в комбинации с высокими уровнями  $IgG_2-Pg$  (позиции 3.3-3.4,  $p > 0,05$ ). Наиболее значимые различия обнаружены между больными с одновременно низкими и одновременно высокими уровнями  $IgG_2-E2$  и  $IgG_2-Pg$  (позиции 3.1-3.4,  $p = 0,009$ ).

Снижение удельного веса опухолей с низким содержанием  $Ki-67 \leq 14$  и соответствующее по-

вышение с  $Ki-67 > 30$  у больных с II-IV стадиями РМЖ по сравнению с I стадией было выраженным при низких уровнях  $IgG_2-E2$  и  $IgG_2-Pg$ , в том числе в их комбинации (позиции 1.1, 2.1, 3.1;  $p < 0,001$ ), а также в комбинации низких уровней  $IgG_2-E2$  с высоким  $IgG_2-Pg$  (позиции 3.3,  $p = 0,002$ ). Во всех остальных случаях наблюдалась такая же тенденция, но статистически не достоверная.

В таблице 8 представлены результаты исследования искомых ассоциаций у больных РМЖ с высокими концентрациями  $Pg$  в сыворотке. В отличие от предыдущих случаев таковых не обнаружили у больных с II-IV стадиями РМЖ. В то же время у больных с I стадией и низким содержанием в опухоли  $Ki-67 \leq 14$  комбинации одновременно низких и одновременно высоких уровней  $IgG_2-E2$  и  $IgG_2-Pg$  (позиции 3.1 и 3.4) встречались чаще (40,4% и 36,1%), чем комбинации высокого уровня одного из них с низким другого (по-

**ТАБЛИЦА 7. ЧИСЛО (n) И ЧАСТОТА (%) ОБНАРУЖЕНИЯ НИЗКИХ ( $\leq$ ) И ВЫСОКИХ ( $>$ ) УРОВНЕЙ ИССЛЕДУЕМЫХ АНТИИДИОТИПИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ ( $IgG_2-E2$  и  $IgG_2-Pg$ , у. е.) И ИХ КОМБИНАЦИЙ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ER+ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (РМЖ) I И II-IV СТАДИЙ С НИЗКИМ СОДЕРЖАНИЕМ В СЫВОРОТКЕ PG (пмоль/л) В СООТВЕТСТВИИ С УРОВНЯМИ Ki-67 В ОПУХОЛИ**

TABLE 7. CASES NUMBERS (n) AND FREQUENCIES (%) OF LOW ( $\leq$ ) AND HIGH ( $>$ ) LEVELS OF STUDIED ANTIIDIDIOTYPIC ANTIBODIES ( $IgG_2-E2$  AND  $IgG_2-Pg$ , c. u.) AND THEIR COMBINATIONS IN I AND II-IV STAGES ER+ BREAST CANCER PATIENTS (BCP) WITH LOW PG SERUM CONCENTRATIONS (pmol/L) ACCORDING TO TUMOR Ki-67 LEVELS

Антитела и их комбинации Antibodies and their combinations	РМЖ ER+ I стадия BCP ER+ I stage (n = 373)			РМЖ ER+ II-IV стадии BCP ER+ II-IV stages (n = 379)			$\chi^2$ (p), df = 2
	Ki-67 $\leq 14$	Ki-67 15-30	Ki-67 > 30	Ki-67 $\leq 14$	Ki-67 15-30	Ki-67 > 30	
	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	
<b>Pg <math>\leq 600</math></b>							
1.1. $IgG_2-E2 \leq 3,5$	35/58,2	15/25,0	10/16,8	10/15,2	19/28,8	37/56,0	29,7 ( $< 0,001$ ) 2,0 (0,37)
1.2. $IgG_2-E2 > 3,5$	49/45,0	31/28,4	29/26,6	30/35,7	25/29,8	29/34,5	
$\chi^2$ (p), df = 2	3,2 (0,20)			9,8 (0,008)			
2.1. $IgG_2-Pg \leq 2,5$	45/56,2	16/20,0	19/23,8	14/20,9	21/31,3	32/47,8	19,3 ( $< 0,001$ ) 6,9 (0,03)
2.2. $IgG_2-Pg > 2,5$	39/43,8	30/33,7	20/22,5	26/31,3	23/27,7	34/41,0	
$\chi^2$ (p), df = 2	4,2 (0,12)			2,1 (0,36)			
3.1. $IgG_2-E2 \leq 3,5$ + $IgG_2-Pg \leq 2,5$	22/61,1	6/16,7	8/22,2	3/9,1	10/30,3	20/60,6	20,5 ( $< 0,001$ )
3.2. $IgG_2-E2 > 3,5$ + $IgG_2-Pg \leq 3,5$	23/52,3	10/22,7	11/25,0	11/32,4	11/32,4	12/35,3	3,1 (0,24)
3.3. $IgG_2-E2 \leq 3,5$ + $IgG_2-Pg > 2,5$	13/54,2	9/37,5	2/8,3	7/21,2	9/27,3	17/51,5	12,5 (0,002)
3.4. $IgG_2-E2 > 3,5$ + $IgG_2-Pg > 2,5$	26/40,0	21/32,3	18/27,7	19/38,0	14/28,0	17/34,0	0,6 (0,75)
$\chi^2$ (p), df = 2 3.1-3.2	0,7 (0,70)			6,6 (0,04)			
$\chi^2$ (p), df = 2 3.1-3.4	4,6 (0,10)			9,5 (0,009)			

зиции 3.2 и 3.3: 27,1% и 34,4%). Соответственно, при высоком содержании в опухоли Ki-67 > 30 эти показатели составили 30,8% и 26,4% против 47,9% и 43,8%. Различия между объединенными подгруппами (3.2+3.3) и (3.1+3.4) оказались статистически значимыми (p = 0,03).

Сравнение больных на II-IV стадиях с I стадией РМЖ по удельным весам опухолей с низким и высоким содержанием Ki-67 показало, что снижение первых и соответствующее повышение вторых имело место как при низких, так и при высоких уровнях IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg (позиции 1 и 2), в том числе при их одновременно низких и одновременно высоких уровнях (позиции 3.1 и 3.4). Такая же тенденция наблюдалась и в комбинациях высокого уровня одного из них при низком уровне другого (позиции 3.2 и 3.3), хотя была статистически недостоверной.

Анализ распределения больных с I стадией РМЖ по содержанию в опухоли Ki-67 с учетом разных уровней каждого из указанных антиидиотипических антител по-отдельности, в зависимости от концентрации Pg в сыворотке крови (позиции 1.1 и 2.1 в табл. 7 и 8), показал значимое увеличение количества случаев с высоким уровнем Ki-67 положительных клеток при высоких концентрациях Pg по сравнению с низкими: при низких уровнях IgG<sub>2</sub>-E2 с 16,7% до 35,7% (p = 0,02) и при низких уровнях IgG<sub>2</sub>-Pg с 23,8% до 39,0% (p = 0,01). Такая же закономерность проявлялась при высоких уровнях IgG<sub>2</sub>-E2 в комбинации с низкими уровнями IgG<sub>2</sub>-Pg (позиции 3,2: с 25,0% до 47,9%, p = 0,03) и при низких уровнях IgG<sub>2</sub>-E2 в комбинации с высокими уровнями IgG<sub>2</sub>-Pg (позиции 3.3: с 8,3% до 43,8%, p = 0,02).

У больных с II-IV стадиями РМЖ значимое возрастание доли опухолей с высоким содержа-

**ТАБЛИЦА 8. ЧИСЛО (n) И ЧАСТОТА (%) ОБНАРУЖЕНИЯ НИЗКИХ (≤) И ВЫСОКИХ (>) УРОВНЕЙ ИССЛЕДУЕМЫХ АНТИИДИОТИПИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ (IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg, у. е.) И ИХ КОМБИНАЦИЙ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ER<sup>+</sup> РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (РМЖ) I И II-IV СТАДИЙ С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ В СЫВОРОТКЕ Pg (пмоль/л) В СООТВЕТСТВИИ С УРОВНЯМИ Ki-67 В ОПУХОЛИ**

TABLE 8. CASES NUMBERS (n) AND FREQUENCIES (%) OF LOW (≤) AND HIGH (>) LEVELS OF STUDIED ANTIIDIOTYPIC ANTIBODIES (IgG<sub>2</sub>-E2 AND IgG<sub>2</sub>-Pg, c. u.) AND THEIR COMBINATIONS IN I AND II-IV STAGES ER<sup>+</sup> BREAST CANCER PATIENTS (BCP) WITH HIGH Pg SERUM CONCENTRATIONS (pmol/L) ACCORDING TO TUMOR Ki-67 LEVELS

Антитела и их комбинации Antibodies and their combinations	РМЖ ER <sup>+</sup> I стадия BCP ER <sup>+</sup> I stage (n = 373)			РМЖ ER <sup>+</sup> II-IV стадии BCP ER <sup>+</sup> II-IV stages (n = 379)			χ <sup>2</sup> (p), df = 2
	Ki-67 ≤ 14	Ki-67 15-30	Ki-67 > 30	Ki-67 ≤ 14	Ki-67 15-30	Ki-67 > 30	
	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	
<b>Pg &gt; 600</b>							
1.1. IgG <sub>2</sub> -E2 ≤ 3,5	32/38,1	22/26,2	30/35,7	21/22,6	18/19,4	54/58,1	9,1 (0,01)
1.2. IgG <sub>2</sub> -E2 > 3,5	39/32,5	39/32,5	42/35,0	38/27,9	26/19,1	72/52,9	9,5 (0,009)
χ <sup>2</sup> (p), df = 2	1,1 (0,58)			0,9 (0,64)			
2.1. IgG <sub>2</sub> -Pg ≤ 2,5	34/34,0	27/27,0	39/39,0	26/23,6	19/17,3	65/59,1	8,5 (0,02)
2.2. IgG <sub>2</sub> -Pg > 2,5	37/35,6	34/32,7	33/31,7	33/27,7	25/21,0	61/51,3	8,9 (0,01)
χ <sup>2</sup> (p), df = 2	1,4 (0,51)			1,4 (0,49)			
3.1. IgG <sub>2</sub> -E2 ≤ 3,5 + IgG <sub>2</sub> -Pg ≤ 2,5	21/40,4	15/28,8	16/30,8	13/24,5	9/17,0	31/58,5	8,2 (0,02)
3.2. IgG <sub>2</sub> -E2 > 3,5 + IgG <sub>2</sub> -Pg ≤ 3,5	13/27,1	12/25,0	23/47,9	13/22,8	10/17,5	34/59,6	1,5 (0,46)
3.3. IgG <sub>2</sub> -E2 ≤ 3,5 + IgG <sub>2</sub> -Pg > 2,5	11/34,4	7/21,9	14/43,8	8/20,0	9/22,5	23/57,5	2,0 (0,36)
3.4. IgG <sub>2</sub> -E2 > 3,5 + IgG <sub>2</sub> -Pg > 2,5	26/36,1	27/37,5	19/26,4	25/31,6	16/20,3	38/48,1	8,9 (0,01)
χ <sup>2</sup> (p), df = 2 (3.2+3.3)-3.4	6,9 (0,03)			2,6 (0,27)			
χ <sup>2</sup> (p), df = 2 (3.2+3.3)-(3.1+3.4)	7,0 (0,03)			4,2 (0,12)			

нием Ki-67 положительных клеток при высоких концентрациях Pg обнаружили только при высоких уровнях IgG<sub>2</sub>-E2 (позиции 1.2 в табл. 7 и 8: 34,5% до 52,9%,  $p = 0,03$ ).

## Обсуждение

Иммуногистохимический анализ ER, PR, Ki-67 и HER-2 является общепринятой диагностической процедурой в определении молекулярно-биологического подтипа РМЖ для последующего выбора оптимальной схемы комбинированного лечения. Утрата опухолю стереоидных рецепторов и возрастание количества клеток, экспрессирующих Ki-67 — очевидные признаки прогрессии РМЖ и других гормоно-зависимых злокачественных новообразований. Исследование внеклеточных факторов организма, модулирующих пролиферативную активность опухоли, представляется перспективным в поиске дополнительных маркеров прогрессии и, возможно, новых средств таргетной терапии рака.

Роль половых гормонов и гормон-связывающего глобулина в канцерогенезе молочной железы не вызывает сомнений. Гораздо менее изученным остается участие аутоантител, специфичных к стероидным гормонам и их рецепторам. А. Maselli и соавт. [10] в сыворотке крови 22 из 46 больных РМЖ обнаружили антитела, специфичные к ER $\alpha$ , уровень которых прямо коррелировал с количеством Ki-67 экспрессирующих клеток опухоли. В наших предыдущих статьях показано снижение удельного веса ER<sup>+</sup> и PR<sup>+</sup> опухолей при II-IV стадиях по сравнению с I у больных РМЖ с высокими уровнями идиотипических аутоантител IgA<sub>1</sub>-E2 и низкими уровнями IgA<sub>1</sub>-Pg [1]. Одновременное повышение уровней антиидиотипических аутоантител IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg было ассоциировано с трансформацией ER<sup>+</sup>/PR<sup>+</sup> в ER<sup>-</sup>/PR<sup>-</sup> опухоли при росте РМЖ [2].

Эти предварительные данные послужили основанием для исследования взаимосвязей между содержанием в опухоли Ki-67 с одной стороны и с уровнями E2 и Pg, а также соответствующих антиидиотипических аутоантител в сыворотке крови больных РМЖ с другой стороны. При этом учитывали следующие обстоятельства: 1) очевидную взаимосвязь экспрессии Ki-67 с ER/PR статусом опухоли; 2) способность антиидиотипических анти-антител к связыванию с мембранными ER и PR и предполагаемое их действие на пролиферативную активность опухоли; 3) вероятное совместное участие E2 и Pg, IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg в регуляции пролиферации опухоли; 4) вероятные различия иммуно-гормональной модуляции пролиферации опухоли в начале заболевания и при последующей прогрессии.

В исследованной нами когорте больных РМЖ ( $n = 896$ ) действительно имело место возрастание удельного веса опухолей, интенсивно экспрессирующих Ki-67 на II-IV стадиях по сравнению с I: при ER<sup>+</sup>/PR<sup>+</sup> опухолях — на 20%; при ER<sup>+</sup>/PR<sup>-</sup> опухолях — на 27%; при ER<sup>-</sup>/PR<sup>-</sup> опухолях — на 61%. Относительное количество опухолей с низким содержанием Ki-67 положительных клеток у больных с ER<sup>-</sup>/PR<sup>-</sup> РМЖ было значительно меньше, чем у больных с ER<sup>+</sup>/PR<sup>+</sup> и ER<sup>+</sup>/PR<sup>-</sup> РМЖ как на I, так и на II-IV стадиях. При этом распределение больных по уровням Ki-67 с ER<sup>+</sup>/PR<sup>+</sup> и ER<sup>+</sup>/PR<sup>-</sup> опухолями было практически одинаковым. Это свидетельствовало о том, что только утрата опухолю обоих ER и PR (но не одного PR при сохранении ER) взаимосвязано с повышенной пролиферативной активностью, и послужило основанием для объединения больных с ER<sup>+</sup>/PR<sup>+</sup> и ER<sup>+</sup>/PR<sup>-</sup> в отдельную подгруппу ( $n = 752$ ), в которой и были выполнены дальнейшие исследования.

Между уровнями IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg были выявлены прямые взаимосвязи, более значимые у больных с I стадией РМЖ ( $p < 0,001$ ) и менее — с II-IV стадиями ( $p = 0,02$ ). Не обнаружили никаких ассоциаций между содержанием в сыворотке E2 и Pg с одной стороны и уровнями IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg — с другой, на любой стадии РМЖ. То есть образование IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg оказалось взаимозависимым, а уровни E2 и Pg — независимыми от антиидиотипических антител, на каждой отдельной стадии. Вместе с тем, удельный вес больных с высокой концентрацией E2 (но не Pg) при II-IV стадиях превышал таковой при I стадии, если уровни IgG<sub>2</sub>-E2 или IgG<sub>2</sub>-Pg были высокими ( $p < 0,01$ ). Это частично подтверждало стимулирующую роль E2 в прогрессии РМЖ.

Удельный вес больных с высокой концентрацией в сыворотке E2 (без учета Ki-67) при II-IV стадиях РМЖ был выше, чем при I стадии (48,5% против 39,9%,  $p = 0,02$ ). Таких различий не обнаружили при анализе Pg ( $p = 0,11$ ). Это также подтверждало проканцерогенное действие E2.

Исследование взаимосвязей экспрессии Ki-67 с содержанием стероидных гормонов показало, что у больных с высокими концентрациями Pg в сыворотке крови удельный вес опухолей с высокими уровнями Ki-67 больше, а с низким — меньше, чем у больных с низкими концентрациями Pg, как при I ( $p = 0,008$ ), так и при II-IV стадиях ( $p = 0,046$ ) РМЖ. Подобных ассоциаций не выявлено при анализе E2. Минимальное количество опухолей с интенсивной экспрессией Ki-67 обнаружено при одновременно низких уровнях E2 и Pg, а максимальное — при одновременно высоких (20,7% и 38,5% при I стадии,  $p = 0,003$ ; 42,2% и 55,6% при II-IV,  $p = 0,01$  соответственно). Опре-

деляющую роль при этом играл Pg. Возрастание удельного веса больных с большим количеством Ki-67 положительных клеток у больных с II-IV стадиями РМЖ по сравнению с I стадией было статистически значимым как при низких, так и при высоких концентрациях E2 и Pg, и при любой их комбинации.

Полученные результаты отчасти противоречат данным Li Q. и соавт. [8] о E2-стимуляции прогрессии ER<sup>+</sup> РМЖ и Н. Mohammed и соавт. [11] о Pg-ингибиции E2-индуцированной пролиферации ER<sup>+</sup> клеток РМЖ. Одним из возможных объяснений этих противоречий может быть влияние на пролиферацию опухоли других внеклеточных факторов наряду со стероидными гормонами, в частности антиидиотипических антител, способных связываться с мембранными ER и PR.

Исследование взаимосвязей Ki-67 с IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg (без учета содержания в сыворотке E2 и Pg) показало отсутствие таковых у больных с I стадией РМЖ как при их анализе по-отдельности, так и при индивидуальных комбинациях высоких и низких уровней. У больных с II-IV стадией и высоким уровне IgG<sub>2</sub>-E2 удельный вес опухолей с низким содержанием Ki-67 положительных клеток был выше, а с высоким – ниже, чем у больных с низким уровнем IgG<sub>2</sub>-E2 ( $p = 0,03$ ). Подобных ассоциаций не обнаружили при исследовании IgG<sub>2</sub>-Pg. Одновременно высоким уровням IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg соответствовали низкие значения удельного веса опухолей с высоким содержанием Ki-67 положительных клеток по сравнению с больными, у которых уровни этих антител были одновременно низкими или низким был уровень одного из них при высоком другого ( $p = 0,03$ ). То есть у больных РМЖ на II-IV стадиях с одновременным образованием IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg зафиксировано торможение пролиферации опухоли по сравнению с больными, у которых имело место их недостаточное образование.

Возрастание количества опухолей с высоким содержанием Ki-67 от I до II-IV стадий РМЖ наблюдалось одинаково значимо у больных как с низкими, так и с высокими уровнями антител, исследованных по отдельности ( $p = 0,005$  и менее). Однако это было характерно только при низких уровнях IgG<sub>2</sub>-E2 в комбинации с низкими уровнями IgG<sub>2</sub>-Pg ( $p < 0,001$ ) или с высокими ( $p = 0,006$ ). При высоких уровнях IgG<sub>2</sub>-E2 это возрастание было статистически недостоверным или менее значимым ( $p = 0,12$  и  $p = 0,02$  соответственно). Таким образом, указанные антиидиотипические антитела оказались действительно способными модулировать пролиферативную активность РМЖ, и ведущую роль в этом играли IgG<sub>2</sub>-E2.

Особый интерес в настоящей работе представляет исследование комплексного влияния стероидных гормонов и соответствующих антиидиотипических антител на пролиферацию опухоли у больных РМЖ. Наиболее демонстративно это влияние проявлялось при сопоставлении больных с высокими и низкими концентрациями гормонов в сыворотке.

У больных с I стадией РМЖ и высокой концентрацией Pg по сравнению с таковыми с низкой концентрацией Pg возрастание количества активно пролиферирующих опухолей было только при низких уровнях IgG<sub>2</sub>-E2 (35,7% против 16,7%,  $p = 0,021$ ) или при низких уровнях IgG<sub>2</sub>-Pg (39,0% против 23,8%,  $p = 0,01$ ), или при низких уровнях IgG<sub>2</sub>-E2 в комбинации с высокими IgG<sub>2</sub>-Pg (43,8 % против 8,3%,  $p = 0,02$ ), или при низких IgG<sub>2</sub>-Pg в комбинации с высокими IgG<sub>2</sub>-E2 (47,9% против 25,0%,  $p = 0,03$ ). Такого возрастания не обнаружили при одновременно высоких уровнях IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg (26,4% против 27,7%,  $p > 0,05$ ).

Распределение больных с I стадией РМЖ с низкими и высокими концентрациями E2 не зависело от уровней исследуемых антител ни по отдельности, ни в комбинациях.

У больных с II-IV стадиями РМЖ и высокой концентрацией Pg по сравнению с таковыми с низкой концентрацией Pg возрастание количества активно пролиферирующих опухолей выявлено только при высоких уровнях IgG<sub>2</sub>-E2 (52,9% против 34,5%,  $p = 0,03$ ). При аналогичном сопоставлении больных с II-IV стадиями и разными концентрациями E2 соответствующие показатели составили 74,2% против 50,9% ( $p = 0,03$ ) в случае одновременно низких уровней IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg.

Таким образом, стимулирующее пролиферацию опухоли действие избытка E2 проявлялось у больных с II-IV стадиями РМЖ при одновременно низких уровнях исследуемых антиидиотипических антител, а Pg – у больных с I стадией РМЖ при низком уровне любого из них в комбинации с высоким другого. Наиболее значимое возрастание удельного веса опухолей с высоким содержанием Ki-67 экспрессирующих клеток у больных с II-IV стадиями РМЖ по сравнению с I стадией имело место при одновременно низких уровнях IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg в комбинации с низкими и высокими концентрациями E2 ( $p < 0,001$ ), с низкими ( $p < 0,001$ ) и высокими ( $p = 0,02$ ) концентрациями Pg.

При II-IV стадиях РМЖ у больных с одновременно высокими уровнями IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg удельный вес опухолей с высоким содержанием Ki-67 положительных клеток был ниже, чем у

больных с одновременно низкими их уровнями или (в некоторых случаях) с низкими уровнями одного из них. Кроме того, количество опухолей с высоким содержанием Ki-67 у больных с II-IV стадией РМЖ по сравнению с I возрастало незначительно при одновременно высоких уровнях IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg ( $p > 0,06$ ). Такое тормозящее пролиферацию опухоли действие антител проявлялось независимо от концентрации в сыворотке E2 и у больных с низкой концентрацией Pg. У больных с высокой концентрацией Pg это действие было менее выражено.

Полученные результаты противоречат данным А. Maselli и соавт. [10] о прямой корреляции уровней анти-ER $\alpha$  антител в сыворотке крови с удельным весом Ki-67 положительных клеток в опухоли у больных РМЖ. Возможным объяснением этого представляются различия в исследуемых когортах больных и деталях иммуноанализа антител. В работе [10] среди 46 больных были женщины в пре- и постменопаузе; не учитывались содержание в сыворотке стероидных гормонов и стадия РМЖ; медиана возраста составляла 53 года; в качестве адсорбированного антитела в ELISA использовали очищенный ER $\alpha$ ; аутоантитела против PR вообще не изучались. В нашей работе выборка состояла из 752 женщин только в постменопаузе с медианой возраста 65 лет; учитывалось участие E2 и Pg в сыворотке крови в анализе искомым ассоциаций антиидиотипических антител с Ki-67; в качестве адсорбированных антигенов использовали моноклональные антитела против E2 и Pg, что позволило исследовать совместное участие IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg в модуляции пролиферативной активности опухоли. Не исключено и различие в связывании различных эпителиальных мембранных ER с анти-ER антителами и с антиидиотипическими антителами к E2 и Pg. Очевидно, что объяснение проявившихся противоречий требует дальнейших, более детальных исследований, тем более что в некоторых экспериментах *in vitro* антитела против ER блокировали эффект E2 на опухолевые клетки молочной железы линии MCF-7 [4].

Если одновременное отсутствие в сыворотке обоих антиидиотипических антител действительно

ассоциировано со стимуляцией пролиферативной активности опухоли, возникает вопрос, возможно ли их использование (или использование антител против ER и PR) в качестве антипролиферативных средств для лечения РМЖ? Выделение больных с высокой пролиферативной активностью опухоли и с низкими уровнями аутологических IgG<sub>2</sub>-E2 и/или IgG<sub>2</sub>-Pg могло бы послужить основанием для применения соответствующих экзогенных антиидиотипических антител или антител, блокирующих ER и/или PR, в качестве дополнительных средств таргетной терапии РМЖ по аналогии с антителами против HER-2, которые с успехом используются в лечении РМЖ.

Например, у больных РМЖ II-IV стадий с высоким содержанием в сыворотке E2 и одновременно низкими уровнями IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg (табл. 6, позиция 3.1) удельный вес опухолей с высоким содержанием Ki-67 положительных клеток составлял 74,2%. Теоретически этот показатель может снизиться до 47,1% при назначении им IgG<sub>2</sub>-E2 (позиция 3.2), до 50,0% – при назначении IgG<sub>2</sub>-Pg (позиция 3.3) и до 48,4% при назначении IgG<sub>2</sub>-E2 совместно с IgG<sub>2</sub>-Pg (позиция 3.4).

## Заключение

Впервые описаны ассоциации пролиферативной активности опухоли с одной стороны и содержания в сыворотке крови антиидиотипических антител к E2 и Pg в совокупности с этими гормонами с другой стороны у больных РМЖ. Выявлены особенности указанных ассоциаций в начале заболевания (при I стадии РМЖ) и при его развитии (при II-IV стадиях). Определены комбинации уровней исследуемых антител в совокупности с концентрацией гормонов, стимулирующие и тормозящие пролиферацию опухоли. Предложено рассмотреть возможность использования антиидиотипических антител или антител против мембранных рецепторов стероидных гормонов в качестве дополнительных средств таргетной терапии РМЖ у больных со стимулирующим пролиферацию иммуно-гормональным статусом.

## Список литературы / References

1. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Гордеева Л.А., Мун С.А., Костянко М.В., Колпинский Г.И., Вафин И.А., Антонов А.В., Вержбицкая Н.Е. Иммунные реакции на химические канцерогены и стероидные гормоны у больных с доброкачественными и злокачественными опухолями молочной железы // Российский иммунологический журнал, 2021. Т. 24, № 1. С. 101-108. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Gordeeva L.A., Mun S.A., Kostyanko M.V., Kolpinckiy G.I., Vafin I.A., Antonov A.V., Verzhbitskaja N.E. Immune reactions to clinical carcinogens and steroid hormones in breast pre-cancer and cancer patients. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2021, Vol. 24, no. 1, pp. 101-108. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-977-IRT.

2. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Мун С.А., Гордеева Л.А., Костянко М.В., Антонов А.В., Байрамов П.В., Вержбицкая Н.Е., Колпинский Г.И. Кооперативное участие стероидных гормонов и гормон-специфических аутоантител в прогрессии рака молочной железы // *Фундаментальная и клиническая медицина*, 2023. Т. 8, № 2. С. 19-32. [Glushkov A.N., Polenok E.G., Gordeeva L.A., Mun S.A., Kostyanko M.V., Antonov A.V., Verzhbitskaya N.N., Bayramov P.V., Verzhbitskaya N.E., Kolpinskiy G.I. Cooperation of steroid hormones and hormone-specific autoantibodies in breast cancer progression. *Fundamentalnaya i klinicheskaya meditsina = Fundamental and Clinical Medicine*, 2023, Vol. 8, no. 2, pp. 19-32. (In Russ.)].
3. Поленок Е.Г., Гордеева Л.А., Мун С.А., Костянко М.В., Антонов А.В., Вержбицкая Н.Е., Байрамов П.В., Колпинский Г.И., Вафин И.А., Глушков А.Н. Кооперативное участие идиотипических и антиидиотипических антител в стероид-зависимом химическом канцерогенезе // *Российский иммунологический журнал*, 2023. Т. 25, № 1. С. 35-48. [Polenok E.G., Gordeeva L.A., Mun S.A., Kostyanko M.V., Antonov A.V., Verzhbitskaya N.E., Bairamov P.V., Kolpinskiy G.I., Vafin I.A., Glushkov A.N. Cooperation of idiotypic and anti-idiotypic antibodies at the steroid-dependent chemical carcinogenesis. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2023, Vol. 25, no. 1, pp. 35-48. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-1177-CO.
4. Chaudhri R.A., Schwartz N., Elbaradie K., Schwartz Z., Boyan B.D. Role of ER $\alpha$  36 in membrane-associated signaling by estrogen. *Steroids*, 2014, Vol. 81, pp. 74-80.
5. Dressing G.E., Goldberg J.E., Charles N.J., Schwertfeger K.L., Lange C.A. Membrane progesterone receptor expression in mammalian tissues: a review of regulation and physiological implications. *Steroids*, 2011, Vol. 76, no. 1-2, pp. 11-17.
6. Greiner M., Pfeiffer D., Smith R.D. Principles and practical application of the receiver operating characteristic analysis for diagnostic test. *Prev. Vet. Med.*, 2000, Vol. 45, pp. 23-41.
7. Kampa M., Notas G., Pelekanou V., Troullinaki M., Andrianaki M., Azariadis K., Kampouri E., Lavrentaki K., Castanas E. Early membrane initiated transcriptional effects of estrogens in breast cancer cells: First pharmacological evidence for a novel membrane estrogen receptor element (ER $\alpha$ ). *Steroids*, 2012, Vol. 77, no. 10, pp. 959-967.
8. Li Q., Gao H., Yang H., Wei W., Jiang Y. Estradiol promotes the progression of ER $^+$  breast cancer through methylation-mediated RSK4 inactivation. *Oncotargets Ther.*, 2019, Vol. 12, pp. 5907-5916.
9. Luconi M., Francavilla F., Porazzi I., Macerola B., Forti G., Baldi E. Human spermatozoa as a model for studying membrane receptors mediating rapid nongenomic effects of progesterone and estrogens. *Steroids*, 2004, Vol. 69, no. 8-9, pp. 553-559.
10. Maselli A., Capoccia S., Pugliese P., Raggi C., Cirulli F., Fabi A., Malorni W., Pierdominici M., Ortona E. Autoantibodies specific to estrogen receptor alpha act as estrogen agonists and their level correlate with breast cancer cell proliferation. *Oncotargets Ther.*, 2016, Vol. 5, no. 2, e1074375. doi: 10.1080/2162402X.2015.1074375.
11. Mohammed H., Russell I.A., Stark R., Rueda O.M., Hickey T.E., Tarulli G.A., Serandour A.A., Birrell S.N., Bruna A., Saadi A., Menon S., Hadfield J., Pugh M., Raj G.V., Brown G.D., D'Santos C., Robinson J.L., Silva G., Launchbury R., Perou C.M., Stingl J., Caldas C., Tilley W.D., Carroll J.S. Progesterone receptor modulates ER $\alpha$  action in breast cancer. *Nature*, 2015, Vol. 523, no. 7560, pp. 313-317.
12. Norfleet A.M., Clarke C.H., Gametchu B., Watson C.S. Antibodies to the estrogen receptor-alpha modulate rapid prolactin release from rat pituitary tumor cells through plasma membrane estrogen receptors. *FASEB J.*, 2000, Vol. 14, no. 1, pp. 157-165.
13. Sömjen D., Kohen F., Lieberherr M. Nongenomic effects of an anti-idiotypic antibody as an estrogen mimetic in female human and rat osteoblasts. *J. Cell. Biochem.*, 1997, Vol. 65, no. 1, pp. 53-66.

---

**Авторы:**

**Глушков А.Н.** — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории иммуногенетики Института экологии человека ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук», г. Кемерово, Россия

**Поленок Е.Г.** — к.фарм.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммунохимии Института экологии человека ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук», г. Кемерово, Россия

**Гордеева Л.А.** — к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории иммуногенетики Института экологии человека ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук», г. Кемерово, Россия

**Authors:**

**Glushkov A.N.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Chief Research Associate, Immunogenetics Laboratory, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Kemerovo, Russian Federation

**Polenok E.G.**, PhD (Pharmacy), Leading Research Associate, Immunochemistry Laboratory, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Kemerovo, Russian Federation

**Gordeeva L.A.**, PhD (Biology), Leading Research Associate, Immunogenetics Laboratory, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Kemerovo, Russian Federation

**Антонов А.В.** — заведующий отделением опухолей молочной железы ГБУЗ «Кузбасский клинический онкологический диспансер имени М.С. Раппопорта», г. Кемерово, Россия

**Antonov A.V.**, Chief, Breast Cancer Department, Kuzbass Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russian Federation

**Байрамов П.В.** — заведующий патологоанатомическим отделением ГБУЗ «Кузбасский клинический онкологический диспансер имени М.С. Раппопорта», г. Кемерово, Россия

**Bayramov P.V.**, Main Physician, Pathology Department, Kuzbass Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russian Federation

**Вержбицкая Н.Е.** — к.м.н., врач-патологоанатом ГБУЗ «Кузбасский клинический онкологический диспансер имени М.С. Раппопорта», г. Кемерово, Россия

**Verzhbitskaya N.E.**, PhD (Medicine), Pathologist, Pathology Department, Kuzbass Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russian Federation

**Колпинский Г.И.** — д.м.н., профессор кафедры лучевой диагностики, лучевой терапии и онкологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет»; главный врач ГАУЗ «Клинический консультативно-диагностический центр имени И.А. Колпинского», г. Кемерово, Россия

**Kolpinskiy G.I.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Department of Radiology, Radiotherapy and Oncology, Kemerovo State Medical University; Main Physician, Kemerovo Clinical Diagnostic Center, Kemerovo, Russian Federation

---

Поступила 11.07.2023  
Принята к печати 03.10.2023

Received 11.07.2023  
Accepted 03.10.2023