

УДК 618.19-006:616-097.3

<https://doi.org/10.23946/2500-0764-2024-9-4-8-19>

# ОСОБЕННОСТИ ЭКСПРЕССИИ ER, PR И Ki-67 В ОПУХОЛИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С РАЗНЫМИ ГЕНЕТИЧЕСКИМИ ВАРИАНТАМИ ESR И УРОВНЯМИ АНТИИДИОТИПИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ К СТЕРОИДНЫМ ГОРМОНАМ

ГЛУШКОВ А. Н.<sup>1</sup>, ПОЛЕНКО Е. Г.<sup>\*1</sup>, ГОРДЕЕВА Л. А.<sup>1</sup>, МУН С. А.<sup>1</sup>, ГЛУШКОВА О. А.<sup>1</sup>, ЗАХАРОВ В. Н.<sup>2</sup>, АНТОНОВ А. В.<sup>2</sup>, БАЙРАМОВ П. В.<sup>2</sup>, ВЕРЖБИЦКАЯ Н. Е.<sup>2</sup>, ВОРОНИНА Е. Н.<sup>3</sup>, КОЛПИНСКИЙ Г. И.<sup>4,5</sup>

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

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

<sup>3</sup>ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук», г. Новосибирск, Россия

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

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

## Резюме

**Цель.** Выявить предполагаемые взаимосвязи экспрессии опухоли ER, PR и Ki-67 с полиморфными вариантами генов *ESR1* и *ESR2* и содержанием в сыворотке крови антиидиотипических антител IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg у больных раком молочной железы (РМЖ).

**Материалы и методы.** Исследовали содержание в сыворотке антиидиотипических антител IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg с помощью иммуноферментного анализа у 1025 больных РМЖ (478 с I стадией и 547 со II–IV стадиями). Генотипирование полиморфных локусов *ESR1* (rs2234693) и *ESR2* (rs4986938) выполняли методом ПЦР в реальном времени с использованием конкурирующих Taq-Man зондов. Наличие в опухоли ER, PR и Ki-67 положительных клеток определяли с помощью иммуногистохимических методов.

**Результаты.** Содержание в сыворотке IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg не зависело от генотипов *ESR1* и *ESR2* у больных РМЖ. ER+/PR+ опу-

ли обнаруживали чаще, а ER-/PR- реже у больных РМЖ на I стадии с одновременно высокими уровнями IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg, чем у больных с низкими их уровнями: у носителей генотипов TC *ESR1* (91,8% и 3,3% vs 73,9% и 11,1%, p = 0,015). У больных с генотипами TT и CC *ESR1* таких различий не выявлено. Не обнаруживали искомым взаимосвязей ER/PR статуса опухоли с исследуемыми антителами и полиморфизмом *ESR2*. Высокое содержание в опухоли Ki-67 положительных клеток (>20%) выявлялось реже у больных РМЖ на II–IV стадиях с одновременно высокими уровнями IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg, чем при низких уровнях этих антител: у носителей генотипов TC *ESR1* (48,4% vs 69,7%, p = 0,004) и GA *ESR2* (46,8% vs 66,3%, p = 0,009). У больных с другими вариантами генотипов *ESR1* и *ESR2* таких различий не было выявлено.

**Заключение.** Обнаружено синергическое действие IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg: сохранение в опухоли ER и PR у больных РМЖ на I стадии и торможение пролиферации опухоли на II–IV стадиях.

## Для цитирования:

Глушков А. Н., Поленок Е. Г., Гордеева Л. А., Мун С. А., Глушкова О. А., Захаров В. Н., Антонов А. В., Байрамов П. В., Вержбицкая Н. Е., Воронина Е. Н., Колпинский Г. И. Особенности экспрессии ER, PR и Ki-67 в опухоли у больных раком молочной железы с разными генетическими вариантами *ESR* и уровнями антиидиотипических антител к стероидным гормонам. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2024;9(4): 8-19. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2024-9-4-8-19>

## \*Корреспонденцию адресовать:

Поленок Елена Геннадьевна, 650065, г. Кемерово, пр. Ленинградский, д. 10, E-mail: [egpolenok@mail.ru](mailto:egpolenok@mail.ru)

© Глушков А.Н. и др.

**Ключевые слова:** рак молочной железы, ER, PR, Ki-67, *ESR1*, *ESR2*, антитела.

**Конфликт интересов**

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования**

Министерство науки и образования Российской Федерации по государственному заданию АААА-А21-121011590009-9.

**ORIGINAL RESEARCH**

## EXPRESSION OF ER, PR AND KI-67 IN TUMOR WITH DIFFERENT GENETIC VARIANTS OF ESR AND LEVELS OF ANTIIDIOTYPIC ANTIBODIES TO STEROID HORMONES IN BREAST CANCER PATIENTS

ANDREY N. GLUSHKOV<sup>1</sup>, ELENA G. POLENOK<sup>1\*</sup>, LYUDMILA A. GORDEEVA<sup>1</sup>, STELLA A. MUN<sup>1</sup>, OLGA A. GLUSHKOVA<sup>1</sup>, VADIM N. ZAKHAROV<sup>2</sup>, ALEXANDER V. ANTONOV<sup>2</sup>, PAVEL V. BAYRAMOV<sup>2</sup>, NATALIA E. VERZHBITSKAYA<sup>2</sup>, ELENA N. VORONINA<sup>3</sup>, GLEB I. KOLPINSKIY<sup>4,5</sup>

<sup>1</sup>Federal Research Center of Coal and Coal chemistry SB RAS, Kemerovo, Russian Federation

<sup>2</sup>Kuzbass Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo, Russian Federation

<sup>3</sup>Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

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

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

### Abstract

**Aim.** To study the possible associations of tumor ER, PR and Ki-67 expression with *ESR1* and *ESR2* genes polymorphisms and blood serum levels of antiidiotypic antibodies IgG<sub>2</sub>-E2 and IgG<sub>2</sub>-Pg in breast cancer patients (BCP).

**Materials and Methods.** Blood serum levels of IgG<sub>2</sub>-E2 and IgG<sub>2</sub>-Pg were studied in 1025 BCP (478 with stage I and 547 with stages II-IV) by means of enzyme-linked immunosorbent assay. Real-time PCR was performed for *ESR1* (rs2234693) and *ESR2* (rs4986938) genes polymorphisms detection. ER, PR and Ki-67 positive tumor cells was determined using immunohistochemistry.

**Results.** IgG<sub>2</sub>-E2 and IgG<sub>2</sub>-Pg blood serum levels were not depended on *ESR1* and *ESR2* gene polymorphisms in BCP. ER+/PR+ tumors were re-

vealed more frequently and ER-/PR- tumors less frequently in BCP at the I stage with high serum levels of both IgG<sub>2</sub>-E2 and IgG<sub>2</sub>-Pg than in BCP with their low levels: in patients with genotype TC *ESR1* (91.8 % and 3.3 % vs 73.9 % and 11.1%,  $p = 0.015$ ). Such differences were not revealed in patients with genotypes TT and CC *ESR1*. There were not discovered the desired association of ER/PR tumor phenotype with studied antibodies and *ESR2* genes polymorphisms. High levels of tumors Ki-67 positive cells (>20%) were determined less frequently in BCP at the II-IV stages with high levels of both IgG<sub>2</sub>-E2 and IgG<sub>2</sub>-Pg than in BCP with their low levels: in patients with genotypes TC *ESR1* (48.4 % vs 69.7 %,  $p = 0.004$ ) and GA *ESR2* (46.8 % vs 66.3 %,  $p = 0.009$ ). There were not revealed such differences in patients with other variants of *ESR1* and *ESR2* genotypes.

◀ English

**For citation:**

Andrey N. Glushkov, Elena G. Polenok, Lyudmila A. Gordeeva, Stella A. Mun, Olga A. Glushkova, Vadim N. Zakharov, Alexander V. Antonov, Pavel V. Bayramov, Natalia E. Verzhbitskaya, Elena N. Voronina, Gleb I. Kolpinskiy. Expression of ER, PR and Ki-67 in tumor with different genetic variants of *ESR* and levels of antiidiotypic antibodies to steroid hormones in breast cancer patients. *Fundamental and Clinical Medicine*. (In Russ.). 2024;9(4): 8-19. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2024-9-4-8-19>

**\*Corresponding author:**

Dr. Elena G. Polenok, 10, Leningradsky Prospekt, Kemerovo, 650065, Russian Federation, E-mail: [egpolenok@mail.ru](mailto:egpolenok@mail.ru)  
© Andrey N. Glushkov, et al.

**Conclusion.** Synergistic effects of IgG<sub>2</sub>-E2 and IgG<sub>2</sub>-Pg were discovered in BCP: the maintenance of ER and PR in tumors at the I stage and inhibition of tumor proliferation at the II-IV stages.

**Keywords:** breast cancer, ER, PR, Ki-67, *ESR1*, *ESR2*, antibodies.

#### Conflict of Interest

None declared.

#### Funding

Ministry of Science and Education of the Russian Federation, state task AAAAA-A21-121011590009-9.

## Введение

Рак молочной железы (РМЖ) остаётся самой распространённой онкопатологией среди женского населения России [1]. Широкое внедрение в практику новых методов анализа молекулярно-биологических маркеров РМЖ позволяет выбрать наиболее эффективные варианты лечения с учётом персональных особенностей опухоли у каждой конкретной больной и таким образом снижать показатели смертности при продолжающемся росте заболеваемости [1, 2]. В частности, экспрессия опухоли рецепторов эстрадиола и прогестерона (ER и PR) и амплификация протеина Ki-67 являются основанием для проведения гормоно- и/или химиотерапии и значимыми прогностическими факторами, определяющими частоту рецидивирования [3].

В связи с этим особый интерес представляет идентификация факторов организма, влияющих на экспрессию опухоли указанных маркеров прогрессии РМЖ. Одним из таких факторов может быть генетический полиморфизм ER, как было показано ранее, ассоциированный с риском возникновения РМЖ [4–6]. Однако, взаимосвязи наследуемых полиморфных вариантов генов *ESR1* и *ESR2* с количеством ER, PR и Ki-67 положительных клеток в опухоли у больных РМЖ до сих пор не исследовались.

В наших предыдущих работах [7, 8] были обнаружены особенности экспрессии стероидных рецепторов и Ki-67 в опухоли у больных РМЖ с различным содержанием в сыворотке крови антиидиотипических антител к эстрадиолу и прогестерону (IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg). Однако вероятная зависимость этого эффекта от генетических полиморфизмов *ESR* оставалась за рамками этих исследований.

## Цель исследования

Выявить предполагаемые взаимосвязи экспрессии опухоли ER, PR и Ki-67 с полиморфными вариантами генов *ESR1* и *ESR2* и содержанием в сыворотке крови антиидиотипических антител IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg у больных РМЖ.

## Материалы и методы

Объектом для настоящего исследования послужила сыворотка крови 1025 женщин в постменопаузе с первично установленным диагнозом «инвазивная карцинома молочной железы неспецифического типа». Все женщины исследуемой группы впервые обратились в Кузбасский клинический онкологический диспансер г. Кемерово, до исследования не получали никакого специального противоопухолевого лечения, в том числе гормонозаместительной терапии. У большинства женщин был диагностирован РМЖ I стадии – в 46,6 % случаев, II стадии – в 38,7 %. РМЖ III и IV стадий были выявлены в 13,4 % и 1,3 % случаев соответственно. Медиана возраста всех женщин составила 65 лет (интерквартильный размах 59–71). Наличие или отсутствие ER, PR и Ki-67 в опухолевых клетках определили с помощью стандартного иммуногистохимического метода в патологоанатомическом отделении онкодиспансера.

Периферическую кровь для исследования забирали в соответствии с этическими принципами Хельсинкской декларации (2013 г.) и согласно «Правилами клинической практики в Российской Федерации» (Приказ Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003 г.). Дизайн исследования был одобрен локальным этическим комитетом Института экологии человека ФИЦ УУХ СО РАН (протокол № 65/2 от 04.06.2024). Предварительно все женщины дали письменное информированное согласие на участие в обследовании.

**Иммуноанализ антител.** Антиидиотипические IgG антитела, специфичные к E2 и Pg (IgG<sub>2</sub>-E2, IgG<sub>2</sub>-Pg), определяли методом неконкурентного полуколичественного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов «ИммуноФА-Эстрадиол», «ИммуноФА-ПГ» («Иммунотех», г. Москва) с иммобилизованными на пластике моноклональными антителами против E2 или Pg по методике [8]. Связавшиеся с моноклональными антителами IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg выявляли с помощью козьих антител против IgG человека, ме-

ченых пероксидазой хрена (Invitrogen, США), с разведением 1/30000. Уровни IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg выражали в условных единицах и рассчитывали по формуле, приведенной в работе [8].

Генотипирование полиморфных локусов *ESR1 PvuII* (rs2234693, – 397T>C) и *ESR2 AluI* (rs4986938 +1730G>A) выполняли методом ПЦР в режиме реального времени с использованием конкурирующих TaqMan-зондов по описанной в работе [9] методике.

Все полученные данные обрабатывали с помощью программы Statistica 8.0 (StatSoft Inc., USA), онлайн калькулятора <https://www.snpstats.net/start.htm>. Предварительно выявив ненормальный характер распределения показателей с помощью W-критерий Шапиро-Уилка, в дальнейшем использовали непараметрический критерий  $\chi^2$  с поправкой Йейтса на непрерывность вариации для оценки различий между группами. Критический уровень значимости принимался  $p < 0,05$ . Соответствие частот генотипов изучаемых генов равновесию Харди-Вайнберга (HWE) оценивали с помощью критерия  $\chi^2$  Пирсона. Нулевую гипотезу отвергали при  $p < 0,05$ .

## Результаты

Выборку больных РМЖ предварительно разделили на 2 группы: с I и II–IV стадиями процесса, поскольку между больными со II, III и IV стадиями не было статистически значимых различий по экспрессии ER, PR и Ki-67, а между больными с I и объединенной группой со II–IV стадиями они были, как показано ранее [7, 8].

Анализ экспрессии ER и PR в опухоли у больных РМЖ с отдельными наследуемыми поли-

морфными вариантами генов *ESR1* (rs2234693) и *ESR2* (rs4986938) показал следующее (таблица 1). Распределение больных I стадии с ER+/PR+, ER+/PR- и ER-/PR- опухолями не зависело от полиморфизма указанных генов: частота обнаружения (отсутствия) ER и PR в опухоли была примерно одинаковой у носителей каждого из анализируемых генотипов *ESR1* ( $p = 0,87$ ) и *ESR2* ( $p = 0,22$ ).

У больных РМЖ II–IV стадий с генотипами TT и TC *ESR1* ER+/PR+ опухоли встречались реже (64,8 % и 66,7 %), чем у больных с генотипом CC (74,2 %), а ER-/PR- опухоли чаще (23,9 %, 20,4 % и 12,2 % соответственно). При этом различия между гомозиготными генотипами TT и CC оказались статистически достоверными ( $p = 0,037$ ).

У больных с генотипами TT и CT *ESR1* доля ER+/PR+ опухолей при II–IV стадиях была значительно меньше, а ER-/PR- опухолей значительно больше, чем при I стадии ( $p = 0,003$  и  $p = 0,002$  соответственно). Такая разница у женщин с генотипом CC *ESR1* оказалась не столь выраженной и статистически незначимой ( $p = 0,37$ ).

У больных РМЖ II–IV стадий с генотипами GG и GA гена *ESR2* ER+/PR+ опухоли обнаруживали реже (63,7 % и 69,6 %), чем у больных с генотипом AA (78,6 %), а ER-/PR- опухоли – чаще (22,6 %, 18,8 % и 8,9 % соответственно), ER+ опухоли у носителей генотипа GG встречались реже (63,7 % + 13,7 % = 77,4 %), чем у носителей генотипа AA (78,6 % + 12,5 % = 91,1 %;  $p = 0,035$ ).

У больных с генотипами GG и GA гена *ESR2* доля ER+/PR+ опухолей при II–IV стадиях был

Гены, генотипы Genes, genotypes	РМЖ I стадия Stage I breast cancer patients (N = 478)			РМЖ II–IV стадии Stages II–IV breast cancer patients (N = 547)			$\chi^2$ (p) df = 2
	ER+/PR+	ER+/PR-	ER-/PR-	ER+/PR+	ER+/PR-	ER-/PR-	
	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	
<i>ESR1</i> (rs2234693)							
TT	121/80,7	14/9,3	15/10,0	103/64,8	18/11,3	38/23,9	11,7 (0,003)
TC	169/79,0	26/12,1	19/8,9	166/66,7	32/12,9	51/20,4	12,7 (0,002)
CC	90/81,1	13/11,7	8/7,2	98/74,2	18/13,6	16/12,2	2,0 (0,37)
$\chi^2$ (p), df = 4	1,3 (0,87)			6,8 (0,15)			-
<i>ESR2</i> (rs4986938)							
GG	147/76,2	24/12,4	22/11,4	149/63,7	32/13,7	53/22,6	10,1 (0,007)
GA	179/84,0	22/10,3	12/5,7	174/69,6	29/11,6	47/18,8	18,9 (<0,001)
AA	54/78,3	7/10,1	8/11,6	44/78,6	7/12,5	5/8,9	0,4 (0,83)
$\chi^2$ (p), df = 4	5,8 (0,22)			6,5 (0,16)			-

**Таблица 1.** Число (n) и доля (%) больных раком молочной железы (РМЖ) с различным ER/PR статусом опухоли при I и II–IV стадиях заболевания в зависимости от полиморфных вариантов генов рецепторов эстрогенов *ESR1* и *ESR2*.

**Table 1.** Number (n) and prevalence (%) of breast cancer patients (BCP) with different tumor ER/PR status at stages I and II–IV of the disease depending on polymorphic variants of the estrogen receptor genes *ESR1* and *ESR2*.

**Таблица 2.**  
Число (n) и доля (%) больных раком молочной железы (PMЖ) с различным ER/PR статусом опухоли при I и II–IV стадиях заболевания в зависимости от уровней антиидиотипических антител, специфичных к эстрадиолу и прогестерону (IgG<sub>2</sub>-E2, IgG<sub>2</sub>-Pg, у.е.), и их комбинаций

**Table 2.**  
Numbers (n) and prevalence (%) of breast cancer patients (BCP) with different tumor ER/PR status at stages I and II–IV of the disease according to serum levels of antiidiotypic antibodies, specific to estradiol and progesterone (IgG<sub>2</sub>-E2, IgG<sub>2</sub>-Pg, CU), and their combinations

Антитела и их комбинации <i>Antibodies and their combinations</i>	PMЖ I стадия <i>Stage I breast cancer patients</i> (N = 478)			PMЖ II–IV стадии <i>Stages II–IV breast cancer patients</i> (N = 547)			χ <sup>2</sup> (p) df = 2
	ER+/PR+	ER+/PR-	ER-/PR-	ER+/PR+	ER+/PR-	ER-/PR-	
	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	
1.1 IgG <sub>2</sub> -E2≤4	189/74,7	37/14,6	27/10,7	217/66,2	42/12,8	69/21,0	11,1 (0,004)
1.2 IgG <sub>2</sub> -E2>4	191/86,0	16/7,2	15/6,8	150/70,8	26/12,3	36/17,0	15,7 (<0,001)
χ <sup>2</sup> (p) df=2	9,8 (0,008)			1,5 (0,47)			
2.1 IgG <sub>2</sub> -Pg≤2,5	188/77,7	32/13,2	22/9,1	172/67,2	31/12,1	53/20,7	13,2 (0,002)
2.2 IgG <sub>2</sub> -Pg>2,5	192/82,4	21/9,0	20/8,6	195/68,7	37/13,0	52/18,3	13,8 (0,002)
χ <sup>2</sup> (p), df=2	2,3 (0,33)			0,5 (0,77)			
3.1 IgG <sub>2</sub> -E2≤4 +IgG <sub>2</sub> -Pg≤2,5	112/74,7	24/16,0	14/9,3	114/64,8	22/12,5	40/22,7	10,6 (0,005)
3.2 IgG <sub>2</sub> -E2>4 +IgG <sub>2</sub> -Pg≤2,5	76/82,6	8/8,7	8/8,7	58/72,5	9/11,3	13/16,3	2,8 (0,24)
3.3 IgG <sub>2</sub> -E2≤4 +IgG <sub>2</sub> -Pg>2,5	77/74,8	13/12,6	13/12,6	103/67,8	20/13,2	29/19,1	1,9 (0,37)
3.4 IgG <sub>2</sub> -E2>4 +IgG <sub>2</sub> -Pg>2,5	115/88,5	8/6,2	7/5,4	92/69,7	17/12,9	23/17,4	14,3 (<0,001)
4. [3.1 + 3.2 + 3.3]	265/76,8	45/13,0	35/10,1	275/67,4	51/12,5	82/20,1	14,3 (<0,001)
χ <sup>2</sup> (p(3.4-4), df=2	8,0 (0,02)			0,5 (0,79)			

значительно меньше, а ER-/PR- опухолей значительно больше, чем при I стадии (p = 0,007 и p < 0,001 соответственно). У больных с генотипом AA ESR2 такой разницы не обнаружено (p = 0,83).

Далее исследовали взаимосвязи указанных вариантов генов ESR1 и ESR2 с пролиферативной активностью опухоли у больных PMЖ. Предполагаемые ассоциации не выявлены: доля больных с высоким и низким содержанием в опухоли Ki-67 положительных клеток (≤20% и >20%) оказалась практически одинаковой у носителей каждого из исследуемых генотипов ESR (p > 0,54). Частота обнаружения опухолей с низкой пролиферативной активностью (Ki-67 ≤20%) значительно снижалась, а с высокой – повышалась у больных со II–IV стадиями по сравнению с I стадией независимо от генотипа больных PMЖ.

Далее рассчитали пороговые значения уровней исследуемых антител, по которым больные с I стадией, экспрессирующие стероидные рецепторы (ER+/PR+), имели наибольшие различия с больными, не экспрессирующими эти рецепторы (ER-/PR-), как указано ранее [7]. Анализ распределения больных PMЖ по ER/PR статусу опухоли в зависимости от индивидуальных уровней антиидиотипических антител к E2 и Pg показал следующее (таблица 2). У больных I стадии с высокими уровнями IgG<sub>2</sub>-E2>4 ER+/PR+ опухоли обнаруживали чаще, чем у больных с низкими уровнями (86,0% против 74,7%). Соответственно ER+/PR- и ER-/PR- опухоли обнаруживали реже (7,2% и 6,8% против 14,6% и 10,7%, p = 0,008). Такая же тенденция, но статистически не значимая (p = 0,33) проявлялась при анализе IgG<sub>2</sub>-Pg.

Наибольшая доля ER+/PR+ опухолей (88,5%) и наименьшая доля ER+/PR- и ER-/PR- опухолей (6,2% и 5,4%) обнаружена у больных I стадии PMЖ с одновременно высокими уровнями IgG<sub>2</sub>-E2>4 и IgG<sub>2</sub>-Pg>2,5 (комбинация 3.4). При всех других комбинациях высоких и низких уровнях исследуемых антител (комбинация 4 = 3.1 + 3.2 + 3.3) ER+/PR+ опухоли встречались реже (76,8%), а ER+/PR- и ER-/PR- встречались чаще (13,0% и 10,1% соответственно, df = 2, p = 0,02).

У больных II–IV стадий PMЖ такие особенности распределения опухолей по ER/PR статусу в зависимости от индивидуальных уровней IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg и от их комбинаций не выявлены.

Доля больных с ER+/PR+ опухолями у больных со II–IV стадиями по сравнению с I стадией была меньше, а с ER-/PR- больше, независимо от уровней IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg, каждого по-отдельности (позиции 1 и 2). Выявленные различия оказались статистически значимыми только для больных с одновременно низкими и одновременно высокими уровнями исследуемых антител (комбинации 3.1, p = 0,005 и 3.4, p < 0,001), но не для больных с высоким уровнем одного из них в комбинации с низким уровнем другого (комбинации 3.2 и 3.3, p = 0,24 и p = 0,37 соответственно).

Искомые взаимосвязи содержания в опухоли Ki-67 положительных клеток с индивидуальными уровнями исследуемых антиидиотипических антител и с их возможными комбинациями (таблица 3) не обнаружены у больных I стадией PMЖ.

Антитела и их комбинации <i>Antibodies and their combinations</i>	РМЖ I стадия <i>Stage I breast cancer patients</i> (N = 478)		РМЖ II-IV стадия <i>Stages II-IV breast cancer patients</i> (N = 547)		$\chi^2$ (p) df = 1
	Ki-67 ≤20%	Ki-67 >20%	Ki-67 ≤20%	Ki-67 >20%	
	n/%	n/%	n/%	n/%	
1.1 IgG <sub>2</sub> -E2≤4 1.2 IgG <sub>2</sub> -E2>4	144/56,9 131/58,2	109/43,1 94/41,8	117/35,0 90/42,3	217/65,0 123/57,7	27,0 (<0,001) 10,5 (0,001)
$\chi^2$ (p) df = 1	0,04 (0,85)		2,6 (0,11)		
2.1 IgG <sub>2</sub> -Pg≤2,5 2.2 IgG <sub>2</sub> -Pg>2,5	135/55,8 140/59,3	107/44,2 96/40,7	87/33,1 120/42,3	176/66,9 164/57,7	25,5 (<0,001) 14,3 (0,0002)
$\chi^2$ (p) df = 1	0,5 (0,49)		4,5 (0,03)		
3.1 IgG <sub>2</sub> -E2≤4 +IgG <sub>2</sub> -Pg≤2,5 3.2 IgG <sub>2</sub> -E2>4 +IgG <sub>2</sub> -Pg≤2,5 3.3 IgG <sub>2</sub> -E2≤4 +IgG <sub>2</sub> -Pg>2,5 3.4 IgG <sub>2</sub> -E2>4 +IgG <sub>2</sub> -Pg>2,5 4. [3.1 + 3.2 + 3.3]	83/55,3 52/56,5 61/59,2 79/59,4 196/56,8	67/44,7 40/43,5 42/40,8 54/40,6 149/43,2	63/34,6 24/29,6 54/35,5 66/50,0 141/34,0	119/65,4 57/70,4 98/64,5 66/50,0 274/66,0	13,5 (<0,001) 11,6 (<0,001) 12,9 (<0,001) 1,9 (0,16) 38,9 (<0,001)
$\chi^2$ (p3.4-4) df = 1	0,2 (0,68)		10,3 (0,001)		

У больных II-IV стадией высокое содержание в опухоли Ki-67 положительных клеток (> 20 %) соответствовало высоким индивидуальным уровням IgG<sub>2</sub>-E2 в меньшей степени, чем низким (57,7 % против 65,0 %, p = 0,11), так же, как и при анализе IgG<sub>2</sub>-Pg (57,7 % против 66,9 %, p = 0,03). Эти тенденции отчетливо проявлялись при анализе комбинаций высоких и низких уровней исследуемых антител. У больных с одновременно низкими их уровнями (комбинация 3.1) или низкими уровнями одного из них при высоком другого (комбинации 3.2 и 3.3) содержание в опухоли Ki-67 >20% обнаруживали чаще (65,4%, 70,4% и 64,5% соответственно), чем у больных с одновременно высокими уровнями IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg (комбинация 3.4, 50,0%). Различия между больными по комбинации 3.4, с одной стороны, и по

комбинации 4 = 3.1 + 3.2 + 3.3, с другой стороны, оказались статистически значимыми (p = 0,001).

Большой удельный вес больных с высоким содержанием Ki-67 положительных клеток при II-IV стадиях по сравнению с I стадией (превышение более, чем на 20%) оказался статистически значимым для случаев с низким содержанием IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg, (в комбинации или с каждым по-отдельности, p<0,001). Такое возрастание было незначительным у больных с одновременно высокими уровнями антиидиотипических антител (превышение менее, чем на 10%, p = 0,16).

Анализ взаимосвязей выделенных иммунологических фенотипов (комбинаций индивидуальных уровней IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg в таблице 3) с вариантами генов ESR1 и ESR2 у больных РМЖ показал следующее (таблица 4). У больных

**Таблица 3.** Число (n) и доля (%) больных раком молочной железы (РМЖ) с различным содержанием Ki-67 положительных клеток в опухоли при I и II-IV стадиях заболевания в зависимости от уровней антиидиотипических антител, специфичных к эстрадиолу и прогестерону (IgG<sub>2</sub>-E2, IgG<sub>2</sub>-Pg, у.е.), и их комбинаций

**Table 3.** Number (n) and prevalence (%) of breast cancer patients (BCP) with different levels of tumor Ki-67 positive cells at stages I and II-IV of the disease according to serum levels of antiidiotypic antibodies, specific to estradiol and progesterone (IgG<sub>2</sub>-E2, IgG<sub>2</sub>-Pg, CU), and their combinations

**Таблица 4.** Число (n) и доля встречаемости (%) больных раком молочной железы (РМЖ) с различными комбинациями антиидиотипических антител при I и II-IV стадиях заболевания в зависимости от полиморфных вариантов генов рецепторов эстрогенов ESR1 и ESR2.

**Table 4.** Number (n) and prevalence (%) of breast cancer patients (BCP) with different combinations of antiidiotypic antibodies at stages I and II-IV of the disease depending on polymorphic variants of the estrogen receptor genes ESR1 and ESR2

Гены, генотипы <i>Genes, genotypes</i>	РМЖ I стадия <i>Stage I breast cancer patients</i> (N = 478)				РМЖ II-IV стадия <i>Stages II-IV breast cancer patients</i> (N = 547)			
	Комбинации антител <i>Antibodies combinations</i>				Комбинации антител <i>Antibodies combinations</i>			
	3.1 n/%	3.2 n/%	3.3 n/%	3.4 n/%	3.1 n/%	3.2 n/%	3.3 n/%	3.4 n/%
ESR1 rs2234693 TT TC CC	47/31,1 71/32,9 32/28,8	29/19,2 39/18,1 24/21,6	35/23,2 43/19,9 25/22,5	40/26,5 63/29,2 30/27,0	48/29,8 85/33,7 49/36,6	24/14,9 38/15,1 19/14,2	50/31,1 65/25,8 37/27,6	39/24,2 64/25,4 29/21,6
$\chi^2$ (p) df = 6	1,6 (>0,05)				2,6 (>0,05)			
ESR2 rs4986938 GG GA AA	60/30,8 72/33,6 18/26,1	38/19,5 45/21,0 9/13,0	48/24,6 38/17,8 17/24,6	49/25,1 59/27,6 25/36,2	80/33,6 86/34,1 16/28,1	37/15,5 37/14,7 7/12,3	67/28,2 67/26,6 18/31,6	54/22,7 62/24,6 16/28,1
$\chi^2$ (p) df = 6	7,6 (>0,05)				1,9 (>0,05)			

с I и II–IV стадиями доля каждого из указанных иммунологических фенотипов была примерно одинаковой у носителей каждого из генотипов *ESR1-2* ( $p > 0,05$ ). Вместе с тем обнаружены некоторые различия у носителей генотипов GG и AA гена *ESR2*. При анализе всей выборки ( $N = 1025$ ) одновременное превышение уровней  $IgG_2$ -E2 и  $IgG_2$ -Pg имело место у 103 из 433 но-

сителей генотипа GG (23,8 %) и у 41 из 126 носителей генотипа AA (32,5 %,  $p = 0,06$ ).

Зависят ли биологические эффекты исследуемых антиидиотипических антител, обозначенные в **таблицах 2 и 3**, от принадлежности больных РМЖ к исследуемым генотипам *ESR*? Результаты поиска на этот вопрос представлены в **таблицах 5 и 6**.

**Таблица 5.**

Число (n) и доля (%) больных раком молочной железы (РМЖ) с различным ER/PR статусом опухоли при I и II–IV стадиях заболевания в зависимости от полиморфных вариантов генов рецепторов эстрогенов *ESR1* и *ESR2* и комбинаций уровней антиидиотипических антител

**Table 5.** Numbers (n) and prevalence (%) of breast cancer patients (BCP) with different tumor ER/PR status at stages I and II–IV of the disease depending on polymorphic variants of the estrogen receptor genes *ESR1* and *ESR2* and levels combinations of antiidiotypic antibodies

Гены, генотипы Genes, genotypes	Комбинации антител Antibodies combinations	РМЖ I стадия Stage I breast cancer patients (N = 478)			РМЖ II–IV стадии Stages II–IV breast cancer patients (N = 547)			$\chi^2$ (p) df = 2	
		ER+/PR+	ER+/PR-	ER-/PR-	ER+/PR+	ER+/PR-	ER-/PR-		
		n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%		
<i>ESR1</i> rs2234693	1.1 TT	4.	85/76,6	12/10,8	14/12,6	78/65,0	14/11,7	28/23,3	4,8 (0,09)
	1.2 TT	3.4	36/92,3	2/5,1	1/2,6	25/64,1	4/10,3	10/25,6	10,0 (0,007)
	2.1 TC	4.	113/73,9	23/15,0	17/11,1	123/66,5	23/12,4	39/21,1	6,1 (0,05)
	2.2 TC	3.4	56/91,8	3/4,9	2/3,3	43/67,2	9/14,1	12/18,8	11,8 (0,003)
	3.1 CC	4.	67/82,7	10/12,3	4/4,9	74/71,8	14/13,6	15/14,6	4,8 (0,09)
	3.2 CC	3.4	23/76,7	3/10,0	4/13,3	24/82,8	4/13,8	1/3,4	1,9 (0,38)
			$\chi^2$ (p1.1-1.2) df = 2	4,8 (0,09)			0,12 (0,94)		
		$\chi^2$ (p2.1-2.2) df = 2	8,7 (0,015)			0,2 (0,89)			
		$\chi^2$ (p3.1-3.2) df = 2	2,3 (0,31)			2,7 (0,26)			
<i>ESR2</i> rs4986938	4.1 GG	4.	107/73,3	20/13,7	19/13,0	113/62,8	26/14,4	41/22,8	5,5 (0,06)
	4.2 GG	3.4	40/85,1	4/8,5	3/6,4	36/66,7	6/11,1	12/22,2	5,6 (0,06)
	5.1 GA	4.	127/81,9	19/12,3	9/5,8	131/69,7	20/10,6	37/19,7	14,1 ( $<0,001$ )
	5.2 GA	3.4	52/89,6	3/5,2	3/5,2	43/69,4	9/14,5	10/16,1	7,5 (0,02)
	6.1 AA	4.	31/70,5	6/13,6	7/15,9	31/77,5	5/12,5	4/10,0	0,7 (0,69)
	6.2 AA	3.4	23/92,0	1/4,0	1/4,0	13/81,3	2/12,5	1/6,3	1,2 (0,55)
			$\chi^2$ (p4.1-4.2) df=2	2,8 (0,25)			0,4 (0,80)		
		$\chi^2$ (p5.1-5.2) df=2	2,4 (0,31)			0,9 (0,63)			
		$\chi^2$ (p6.1-6.2) df=2	4,4 (0,11)			0,2 (0,91)			

У больных РМЖ с I стадией носителей генотипа TT *ESR1* с низкими уровнями  $IgG_2$ -E2 и  $IgG_2$ -Pg (одновременно или одного из них, комбинация 1.1) ER+/PR+ опухоли обнаруживали реже, а ER+/PR- и ER-/PR- чаще, чем с одновременно высокими уровнями этих антител (комбинации 1.1 и 1.2  $p = 0,09$ ). Такая же закономерность выявлена и для носителей генотипа TC *ESR1* (комбинации 2.1 и 2.2,  $p = 0,015$ ). Напротив, у больных с генотипом CC *ESR1* ER+/PR+ опухоли встречались чаще, а ER-/PR- реже в таком же сравнении (комбинации 3.1 и 3.2) и различия по иммунологическим фенотипам были недостоверными ( $p = 0,31$ ).

У больных РМЖ со II–IV стадиями с генотипами TT и гетерозигот TC *ESR1* ER+/PR+, ER+/PR- и ER-/PR- опухоли обнаруживали с практически одинаковой частотой при любом из иммунологических фенотипов (сравнение комбинаций 1.1-1.2 и 2.1-2.2:  $p > 0,89$ ). У больных с генотипом CC *ESR1* ER+/PR+ опухоли выявлялись чаще, а ER-/PR- реже при одновременно высоких уровнях  $IgG_2$ -E2 и  $IgG_2$ -Pg (комбинация 3.4), чем при низких уровнях этих антител (комбинация 3.1), однако ввиду малочисленности этой подгруппы больных указанные различия были статистически не достоверными.

Статистическое значимое снижение доли ER+/PR+ опухолей и возрастание доли ER-/PR-

опухолей при сравнении больных со II–IV и с I стадией РМЖ проявлялось у носителей генотипов ТТ и ТС *ESR1* с одновременно высокими уровнями IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg (комбинации 1.2 и 2.2). Во всех остальных случаях, (комбинации 1.1 и 2.1), в том числе у носителей генотипа СС *ESR1* (комбинации 3.1 и 3.2) различия по распределению опухолей по признаку ER/PR оказались статистически незначительными.

У больных I стадией РМЖ с одновременно высокими уровнями IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg (комбинации 4.2, 5.2 и 6.2) ER+/PR+ опухоли выявлялись чаще, а ER+/PR- и ER-/PR- реже, чем у больных с одновременно низкими уровнями этих антител или одного из них при каждом из исследуемых генотипов *ESR2*, однако такие различия были статистически недостоверными.

Практически не различались между собой больные II–IV стадиями РМЖ с обозначенными иммунологическими фенотипами при исследованных генотипах *ESR2* (комбинации 4.1, 5.1 и 6.1 против 4.2, 5.2 и 6.2,  $p > 0,05$ ).

Статистически значимое снижение доли ER+/PR+ опухолей и соответствующее возрастание доли ER-/PR- опухолей имело место у носителей генотипа GA *ESR2* при сравнении больных со II–IV стадиями и с I стадией РМЖ, независимо от иммунологического фенотипа. У больных с генотипом GG *ESR2* проявлялись такие же различия, но они оказались статистически малодостоверными ( $p = 0,06$ ). Небольшое число носителей генотипа AA с распре-

лением их по стадиям, ER/PR статусу опухоли и иммунологическим фенотипам не позволило провести аналогичное сравнение достаточно корректно.

Исследование пролиферативной активности опухоли у больных РМЖ – носителей генотипов *ESR1* и *ESR2* с выделенными иммунологическими фенотипами (комбинациями) показало следующее (таблица 6). Опухоли с низким и высоким содержанием Ki-67 положительных клеток у больных с I стадией РМЖ встречались с почти одинаковой частотой независимо от иммунологического фенотипа и генотипа *ESR1*. У больных со II–IV стадией РМЖ с одновременно высокими уровнями IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg опухоли с высоким содержанием Ki-67 экспрессирующих клеток обнаруживали реже, чем у больных с низкими уровнями (у носителей генотипа ТТ 46,2 % против 63,1 %,  $p = 0,09$ ; у носителей генотипа ТС 48,4 % против 69,7 %,  $p = 0,004$ ). У больных с генотипом СС такие различия практически отсутствовали ( $p = 0,84$ ).

Возрастание доли активно пролиферирующих опухолей у больных со II–IV стадиями РМЖ по сравнению с I стадией было статистически достоверным только при обнаружении у них низких уровней IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg, независимо от генотипа *ESR1* (комбинации 1.1, 2.1 и 3.1). Наиболее выраженными такие различия оказались характерными для носителей генотипа ТС *ESR1* ( $p < 0,001$ ).

**Таблица 6.** Число (n) и доля (%) больных раком молочной железы (РМЖ) с различным содержанием Ki-67 положительных клеток в опухоли при I и II–IV стадиях заболевания в зависимости от полиморфных вариантов генов рецепторов эстрогенов *ESR1* и *ESR2* и комбинаций уровней антиидиотипических антител

**Table 6.** Number (n) and prevalence (%) of breast cancer patients (BCP) with different levels of tumor Ki-67 positive cells at stages I and II–IV of the disease according to polymorphic variants of the estrogen receptor genes *ESR1* and *ESR2* and levels combinations of antiidiotypic antibodies

Гены, генотипы <i>Genes, genotypes</i>	Комбинации антител <i>Antibodies combinations</i>	РМЖ I стадия <i>Stage I breast cancer patients</i> (N = 478)		РМЖ II–IV стадии <i>Stages II–IV breast cancer patients</i> (N = 547)		$\chi^2$ (p) df = 1
		Ki-67 ≤20%	Ki-67 >20%	Ki-67 ≤20%	Ki-67 >20%	
		n/%	n/%	n/%	n/%	
<i>ESR1</i> (rs2234693)						
1.1 TT	4.	61/54,9	50/45,1	45/36,9	77/63,1	6,9 (0,008)
1.2 TT	3.4	24/60,0	16/40,0	21/53,8	18/46,2	0,1 (0,75)
2.1 TC	4.	89/58,2	64/41,8	57/30,3	131/69,7	25,6 (<0,001)
2.2 TC	3.4	38/60,3	25/39,7	33/51,6	31/48,4	0,7 (0,42)
3.1 CC	4.	46/56,8	35/43,2	39/37,1	66/62,9	6,3 (0,01)
3.2 CC	3.4	17/56,7	13/43,3	12/41,4	17/58,6	0,8 (0,36)
	$\chi^2$ (p1.1-1.2) df = 1	0,13 (0,72)		2,8 (0,09)		
	$\chi^2$ (p2.1-2.2) df = 1	0,02 (0,89)		8,5 (0,004)		
	$\chi^2$ (p3.1-3.2) df = 1	0,04 (0,84)		0,04 (0,84)		
<i>ESR2</i> (rs4986938)						
4.1 GG	4.	85/58,2	61/41,8	63/34,2	121/65,8	17,9 (<0,001)
4.2 GG	3.4	33/67,3	16/32,7	27/50,0	27/50,0	2,5 (0,11)
5.1 GA	4.	86/55,5	69/44,5	64/33,7	126/66,3	15,6 (<0,001)
5.2 GA	3.4	32/54,2	27/45,8	33/53,2	29/46,8	0,01 (0,94)
6.1 AA	4.	25/56,8	19/43,2	14/34,1	27/65,9	3,5 (0,06)
6.2 AA	3.4	14/56,0	11/44,0	6/37,5	10/62,5	0,7 (0,40)
	$\chi^2$ (p4.1-4.2) df = 1	0,9 (0,33)		3,8 (0,05)		
	$\chi^2$ (p5.1-5.2) df = 1	0,0001 (0,99)		6,7 (0,009)		
	$\chi^2$ (p6.1-6.2) df = 1	0,03 (0,85)		0,005 (0,94)		

У больных с I стадией РМЖ опухоли с низким или высоким содержанием Ki-67 положительных клеток выявили практически с одинаковой частотой при каждом из трёх исследуемых генотипов *ESR2* и при каждом из двух обозначенных иммунологических фенотипов. У больных со II–IV стадиями РМЖ с одновременно высокими уровнями IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg опухоли с высоким содержанием Ki-67 экспрессирующих клеток выявлялись реже, чем у больных с низкими их уровнями (у носителей генотипа GG 50,0 % против 65,8 %,  $p = 0,05$ ; у носителей генотипа GA 46,8 % против 66,3 %,  $p = 0,009$ ). У больных с генотипом AA удельный вес активно пролиферирующих опухолей был практически одинаковым при любом уровне антиидиотипических антител ( $p = 0,94$ ).

Возрастание частоты обнаружения опухолей с высоким содержанием Ki-67 положительных клеток у больных со II–IV стадией, по сравнению с I стадией, имело место только при наличии генотипов GG и GA *ESR2* с низкими уровнями IgG<sub>2</sub>-E2 и/или IgG<sub>2</sub>-Pg (комбинации 4.1 и 5.1  $p < 0,001$ ). При одновременно высоких уровнях этих антител такое возрастание было статистически незначимым у носителей генотипа GG ( $p = 0,11$ ) или практически отсутствовало у носителей генотипа GA ( $p = 0,94$ ). У больных с генотипом AA *ESR2* доля опухолей с высоким содержанием Ki-67 положительных клеток была значительно выше при II–IV стадиях, в сравнении с I стадией, независимо от уровней IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg, однако ввиду малочисленности этой подгруппы больных указанные различия не достигали статистической достоверности.

## Обсуждение

В настоящей работе исследовали взаимосвязи уровней антиидиотипических антител, специфичных к E2 и Pg, в сыворотке крови больных РМЖ с различными вариантами генов, кодирующих рецепторы E2, и экспрессией опухолями ER и PR, а также маркера клеточной пролиферации – протеина Ki-67. При этом учитывали, что экспрессия ER, PR и Ki-67 изменяется по мере роста опухоли. Для этого сравнивали содержание в сыворотке крови указанных антител и маркеров опухоли у пациенток в самом начале заболевания (I стадия) и при дальнейшем росте опухоли (II–IV стадии). Поскольку все обследованные больные до выполнения анализов не получали специфического противоопухолевого лечения, условно считали, что

различия в экспрессии опухолью ER, PR и Ki-67 у больных женщин с I и II–IV стадиями отражают процессы прогрессии индивидуальной опухоли и участие антиидиотипических антител в этих процессах.

Впервые выявлено, что утрата опухолью ER при прогрессии РМЖ зависела от наследуемых полиморфных вариантов генов *ESR1-2*. В частности, доля больных с ER+/PR+ опухолями была выше, а ER-/PR- ниже у женщин с генотипами CC *ESR1* и AA *ESR2* по сравнению с носителями генотипов TT ( $p = 0,037$ ) и GG ( $p = 0,055$ ), соответственно. Эти различия были статистически достоверными, при сравнении больных только по ER+ и ER- ( $p = 0,016$  и  $p = 0,035$  соответственно). Кроме того, снижение доли ER+/PR+ опухолей и возрастание доли ER-/PR- опухолей у больных со II–IV стадиями, по сравнению с I, было незначительным у носителей генотипов CC *ESR1* и AA *ESR2* ( $p > 0,3$ ), в отличие от больных с генотипами TT и CT *ESR1* и GG и GA *ESR2* ( $p < 0,007$ ). Аналогичных особенностей экспрессии PR не обнаружили.

Подтвердили ранее полученные данные о взаимосвязях антиидиотипических антител в сыворотке крови с экспрессией опухолью ER, PR и Ki-67 [7, 8]. У больных с I (но не со II–IV) стадией РМЖ ER+/PR+ опухоли встречались чаще, а ER-/PR- опухоли реже при одновременно высоких уровнях IgG<sub>2</sub>-E2 (в большей степени) и IgG<sub>2</sub>-Pg, чем при одновременно низких уровнях или при низком уровне одного из них. У больных со II–IV стадиями (но не с I) опухоли с низким содержанием Ki-67 обнаруживались чаще, а с высокими – реже при одновременно высоких уровнях IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg, чем при одновременно низких уровнях или при низком уровне одного из них. Таким образом, синергический положительный эффект антиидиотипических антител проявлялся у женщин в начале заболевания (торможение утраты опухолью стероидных рецепторов, в основном, ER) и при его развитии (торможение пролиферативной активности опухоли).

Впервые установлено, что образование антиидиотипических ауто-антител не зависело от полиморфных локусов генов *ESR1* и *ESR2*. В частности, показано, что доли больных с одновременно высокими уровнями IgG<sub>2</sub>-E2 и IgG<sub>2</sub>-Pg (протективный иммунологический фенотип) и с одновременно низкими их уровнями или с низкими уровнями одного из них при высоком другого (проканцерогенные иммуноло-

гические фенотипы) не зависели от носительства того или иного генотипа *ESR1* и *ESR2* как при I, так и при II–IV стадиях РМЖ. Кроме того, «представительство» указанных иммунологических фенотипов не изменялось при прогрессии опухоли у больных с любым из исследуемых генотипов *ESR1-2*.

В настоящей работе впервые описана зависимость биологических эффектов антиидиотипических ауто-антител, специфичных к стероидным рецепторам, от наследуемых генетических вариантов этих рецепторов. В частности, антипролиферативное совместное действие  $IgG_2$ -E2 и  $IgG_2$ -Pg у больных РМЖ II–IV проявлялось только у носителей генотипов TT (в меньшей степени) и TC (в большей степени) гена *ESR1*, и вовсе не проявлялось при генотипе CC. Аналогичная закономерность была характерна и для носителей генотипов *ESR2* – обнаружена у носителей генотипов GG и GA (в большей степени) и не выявлена у больных с генотипом AA.

Это же самое можно сказать и о генетически зависимом влиянии антиидиотипических антител на ER/PR статус опухоли у больных РМЖ I стадии. Одновременное повышение уровней  $IgG_2$ -E2 и  $IgG_2$ -Pg было ассоциировано с большим удельным весом ER+/PR+ опухолей только у носителей генотипов TT и TC (в большей степени), но не у носителей генотипа CC *ESR1*, у которых проявилась обратная тенденция: частота ER+/PR+ опухолей оказалась меньше, а ER-/PR- больше, чем у больных с низкими уровнями указанных антител. Причины этих различий остаются неизвестными.

Полученные результаты важны для дальнейших поисков потенциальных маркеров прогрессии РМЖ и других гормонозависимых новообразований. Ассоциации инверсии стероидных рецепторов и возрастания пролиферативной активности опухоли с исследуемыми вариантами стероидных рецепторов необходимо исследовать только в комплексе с анализом

фенотипических факторов организма, тропных к этим рецепторам, – гормонов и соответствующих ауто-антител, в том числе антиидиотипических. И наоборот, адекватная оценка влияния гормонов и антирецепторных ауто-антител на возникновение и прогрессию гормонозависимых опухолей возможна только в совокупности с анализом полиморфных локусов генов стероидных рецепторов (в идеале – с анализом гаплотипов эстрогеновых и прогестероновых рецепторов).

## Заключение

Антиидиотипические ауто-антитела, специфичные к E2 и Pg ( $IgG_2$ -E2 и  $IgG_2$ -Pg), синергически подавляют пролиферацию опухоли у больных РМЖ на II–IV стадиях, не оказывая влияния на экспрессию внутриклеточных ER и PR. Восполнение внутреннего дефицита  $IgG_2$ -E2 и/или  $IgG_2$ -Pg искусственно созданными антителами против стероидных рецепторов, подавляющими пролиферацию опухолевых клеток, представляется перспективным методом иммунотерапии в дополнение к известным методам эндокринотерапии антиэстрогеновыми препаратами. Одним из показаний для применения такой иммунотерапии может быть принадлежность больных РМЖ к определённым наследуемым вариантам генотипов (гаплотипов) стероидных рецепторов, чувствительным к противоопухолевому действию ауто-антител, специфичных к стероидным рецепторам.

## Благодарности/ Acknowledgements

Авторы благодарят академика Л.И. Иванову за поддержку выбранного направления исследований, а также сотрудников лаборатории иммунохимии Института экологии человека ФИЦ УУХ СО РАН Аносову Т.П., Аносова М.П., Гурова Е.А., Аверьянова А.В. за техническую поддержку настоящей работы.

## Литература :

1. Мерабишвили В.М., Семиглазов В.Ф., Комяхов А.В., Семиглазова Т.Ю., Криворотко П.В., Беляев А.М. Состояние онкологической помощи в России: рак молочной железы. Эпидемиология и выживаемость больных. Влияние эпидемии бета-варианта коронавируса SARS-CoV-2 (клинико-популяционное исследование). *Опухоли женской репродуктивной системы*. 2023;19(3):16-24. <https://doi.org/10.17650/1994-4098-2023-19-3-16-24>
2. Стрункин Д.Н., Конончук В.В., Гуляева Л.Ф., Богачев С.С., Проксурина А.С. Современные аспекты систематики, диагностики и
3. Исмагилов А.Х., Ванесян А.С., Хузина Д.Р. Разработка прогностической модели для рака молочной железы I стадии. *Опухоли женской репродуктивной системы*. 2021;17(2):14-22. <https://doi.org/10.17650/1994-4098-2021-17-2-14-22>
4. Borgquist S., Hjertberg M., Henningson M., Ingvar C., Rose C., Jernström H. Given breast cancer, is fat better than thin? Impact of the

- estrogen receptor beta gene polymorphisms. *Breast Cancer Res. Treat.* 2013;137(3):849-862. <https://doi.org/10.1007/s10549-012-2367-z>
5. Hu X., Jiang L., Tang C., Ju Y., Jiu L., Wei Y., Guo L., Zhao Y. Association of three single nucleotide polymorphisms of ESR1 with breast cancer susceptibility: a meta-analysis. *J. Biomed. Res.* 2017;31(3):213-225. <https://doi.org/10.7555/JBR.31.20160087>
  6. Chauhan P., Yadav R., Kaushal V., Kadian L. Evaluation of genetic polymorphism in estrogen receptor  $\alpha$  gene as breast cancer risk. *Biomed. Res.* 2019;30(1):72-77. <https://doi.org/10.35841/biomedical-research.30-18-1189>
  7. 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;8(2):19-32. <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2023-8-2-19-32>
  8. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Гордеева Л.А., Байрамов П.В., Вержбицкая Н.Е., Антонов А.В., Колпинский Г.И., Костянко М.В. Анти-тела и анти-антитела, специфичные к эстрадиолу и прогестерону, и пролиферативная активность опухоли у больных раком молочной железы. *Сибирский онкологический журнал.* 2024;23(3):73-85. <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2024-23-3-73-85>
  9. Глушков А.Н., Поленок Е.Г., Гордеева Л.А., Мун С.А., Антонов А.В., Байрамов П.В., Вержбицкая Н.Е., Колпинский Г.И., Вафин И.А. Антиидиотипические антитела против эстрадиола и генетический полиморфизм эстрогеновых рецепторов  $\alpha$  и  $\beta$  у больных раком молочной железы. *Медицинская иммунология.* 2024;26(1):159-168. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-AIA-2598>

## References:

1. Merabishvili VM, Semiglazov VF, Komiakhov AV, Semiglazova TYu, Krivorotko PV, Belyaev AM. The state of cancer care in Russia: breast cancer. Epidemiology and survival of patients. The impact of the SARS-CoV-2-beta-coronavirus epidemic (clinical and population study). *Tumors of female reproductive system.* 2023;19(3):16-24. (In Russian). <https://doi.org/10.17650/1994-4098-2023-19-3-16-24>
2. Strunkin DN, Kononchuk VV, Gulyaeva LF, Bogachev SS, Proskurina AS. Current aspects of systematics, diagnosis and treatment of breast cancer. *Tumors of female reproductive system.* 2022;18(1):25-39. (In Russian). <https://doi.org/10.17650/1994-4098-2022-18-1-25-39>
3. Ismagilov AKh, Vanesyan AS, Khuzina DR. Development of the predictive model for I stage breast cancer. *Tumors of female reproductive system.* 2021;17(2):14-22. (In Russian). <https://doi.org/10.17650/1994-4098-2021-17-2-14-22>
4. Borgquist S, Hjertberg M, Henningson M, Ingvar C, Rose C, Jernström H. Given breast cancer, is fat better than thin? Impact of the estrogen receptor beta gene polymorphisms. *Breast Cancer Res Treat.* 2013;137(3):849-862. <https://doi.org/10.1007/s10549-012-2367-z>
5. Hu X, Jiang L, Tang C, Ju Y, Jiu L, Wei Y, Guo L, Zhao Y. Association of three single nucleotide polymorphisms of ESR1 with breast cancer susceptibility: a meta-analysis. *J Biomed Res.* 2017;31(3):213-225. <https://doi.org/10.7555/JBR.31.20160087>
6. Chauhan P, Yadav R, Kaushal V, Kadian L. Evaluation of genetic polymorphism in estrogen receptor  $\alpha$  gene as breast cancer risk. *Biomed Res.* 2019;30(1):72-77. <https://doi.org/10.35841/biomedicalresearch.30-18-1189>
7. Glushkov AN, Polenok EG, Mun SA, Gordeeva LA, Kostyanko MV, Antonov AV, Bayramov PV, Verzhbitskaya NN, Kolpinskiy GI. Cooperation of steroid hormones and hormone-specific autoantibodies in breast cancer progression. *Fundamental and Clinical Medicine.* 2023;8(2):19-32. (In Russian). <https://doi.org/10.23946/2500-0764-2023-8-2-19-32>
8. Glushkov AN, Polenok EG, Gordeeva LA, Bayramov PV, Verzhbitskaya NE, Antonov AV, Kolpinskiy GI, Kostyanko MV. Antibodies and anti-antibodies specific to estradiol and progesterone and tumor proliferation in breast cancer patients. *Siberian Journal of Oncology.* 2024;23(3):73-85. (In Russian). <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2024-23-3-73-85>
9. Glushkov AN, Polenok EG, Gordeeva LA, Mun SA, Antonov AV, Bayramov PV, Verzhbitskaya NE, Kolpinskiy GI, Vafin IA. Antiidiotypic antibodies to estradiol and gene polymorphisms of  $\alpha$  and  $\beta$  estrogenic receptors in breast cancer patients. *Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya.* 2024;26(1):159-168. (In Russian). <https://doi.org/10.15789/1563-0625-AIA-2598>

## Сведения об авторах

**Глушков Андрей Николаевич**, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории иммуногенетики Института экологии человека. ФГБНУ «Федеральный исследовательский центра угля и углекислоты СО РАН (650065, Россия, г. Кемерово, пр. Ленинградский, д. 10).

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

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

**Поленок Елена Геннадьевна**, кандидат фармацевтических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунохимии Института экологии человека. ФГБНУ «Федеральный исследовательский центра угля и углекислоты СО РАН (650065, Россия, г. Кемерово, пр. Ленинградский, д. 10).

**Вклад в статью:** сбор и анализ данных, написание статьи.

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

**Гордеева Людмила Александровна**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммуногенетики Института экологии человека. ФГБНУ «Федеральный исследовательский центра угля и углекислоты СО РАН (650065, Россия, г. Кемерово, пр. Ленинградский, д. 10).

**Вклад в статью:** статистический анализ данных, написание статьи.

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

**Мун Стелла Андреевна**, кандидат медицинских наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории иммуногенетики

## Authors

**Prof. Andrey N. Glushkov**, MD, DSc, Professor, Chief Research Fellow, Laboratory of Immunogenetics, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry SB RAS (10, Leningradsky Prospekt, Kemerovo, 650065, Russian Federation)

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

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

**Mrs. Elena G. Polenok**, PhD (Pharmaceutical sciences), Leading Research Fellow, Laboratory of Immunochemistry, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (10, Leningradsky Prospekt, Kemerovo, 650065, Russian Federation).

**Contribution:** collected and processed the data; wrote the manuscript.

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

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

**Contribution:** performed the data analysis.

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

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

Института экологии человека. ФГБНУ «Федеральный исследовательский центра угля и углекислого СО РАН (650065, Россия, г. Кемерово, пр. Ленинградский, д. 10).

**Вклад в статью:** статистический анализ данных.  
**ORCID:** 0000-0002-5530-3469

**Глушкова Ольга Андреевна**, ведущий инженер-биолог лаборатории иммуногенетики Института экологии человека. ФГБНУ «Федеральный исследовательский центра угля и углекислого СО РАН (650065, Россия, г. Кемерово, пр. Ленинградский, д. 10).

**Вклад в статью:** статистический анализ данных.  
**ORCID:** 0000-0003-2875-4835

**Захаров Вадим Николаевич**, кандидат медицинских наук, главный врач, ГБУЗ «Кузбасский клинический онкологический диспансер им. М.С. Раппопорта» (650036, Россия, г. Кемерово, ул. Волгоградская, д. 35).

**Вклад в статью:** анализ и обсуждение результатов работы.  
**ORCID:** 0009-0003-1731-1534

**Антонов Александр Витальевич**, заведующий отделением опухолей молочной железы, ГБУЗ «Кузбасский клинический онкологический диспансер им. М.С. Раппопорта» (650036, Россия, г. Кемерово, ул. Волгоградская, д. 35).

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

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

**Байрамов Павел Валерьевич**, заведующий патологоанатомическим отделением, ГБУЗ «Кузбасский клинический онкологический диспансер им. М.С. Раппопорта» (650036, Россия, г. Кемерово, ул. Волгоградская, д. 35).

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

**ORCID:** 0000-0002-4649-5892

**Вержбицкая Наталья Евгеньевна**, кандидат медицинских наук, врач-патологоанатом патологоанатомического отделения, ГБУЗ «Кузбасский клинический онкологический диспансер им. М.С. Раппопорта» (650036, Россия, г. Кемерово, ул. Волгоградская, д. 35).

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

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

**Воронина Елена Николаевна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, заведующий группой молекулярной генетики ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН» (630090, Россия, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, д. 8).

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

**ORCID:** 0000-0002-3405-6980

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

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

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

Статья поступила: 09.07.2024 г.

Поступила после переработки: 16.08.2024 г.

Принята в печать: 30.11.2024 г.

**Contribution:** performed the data analysis.

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

**Mrs. Olga A. Glushkova**, Leading Engineer-biologist, Laboratory of Immunogenetics, Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (10, Leningradsky Prospekt, Kemerovo, 650065, Russian Federation).

**Contribution:** performed the data analysis.

**ORCID:** 0000-0003-2875-4835

**Dr. Vadim N. Zakharov** – MD, PhD, Head of Kuzbass Clinical Oncology Dispensary, Kemerovo (17, Volgogradskaya Street, Kemerovo, 650036, Russian Federation)

**Contribution:** analysis and processed the clinical data.

**ORCID:** 0009-0003-1731-1534

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

**Contribution:** collected and processed the clinical data.

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

**Dr. Pavel V. Bayramov**, MD, Chief of Pathology Unit, Kuzbass Clinical Oncology Dispensary (35, Volgogradskaya Street, Kemerovo, 650036, Russian Federation).

**Contribution:** collected and processed the data.

**ORCID:** 0000-0002-4649-5892

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

**Contribution:** collected and processed the data.

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

**Mrs. Elena N. Voronina**, PhD (biology), Senior Research Fellow, Chief of the Molecular Genetics Group, Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (8, Akademika Lavrentieva Prospekt, Novosibirsk, 630090, Russian Federation).

**Contribution:** performed the data analysis.

**ORCID:** 0000-0002-3405-6980

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

**Contribution:** collected and processed the data.

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

Received: 09.07.2024

Revised: 16.08.2024

Accepted: 30.11.2024