

АНТИИДИОТИПИЧЕСКИЕ АУТОАНТИТЕЛА, СПЕЦИФИЧНЫЕ К СТЕРОИДНЫМ ГОРМОНАМ, И ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ ОПУХОЛИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Глушков А.Н.¹, Поленок Е.Г.¹, Мун С.А.¹, Гордеева Л.А.¹,
Антонов А.В.², Байрамов П.В.², Вержбицкая Н.Е.²,
Колпинский Г.И.^{3,4}

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

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

³ ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет», г. Кемерово, Россия

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

Резюме. В экспериментах *in vitro* показано внегеномное биологическое действие антител, специфичных к мембранным рецепторам стероидных гормонов. В сыворотке крови больных раком молочной железы (РМЖ) обнаружены аутоантитела против эстрогеновых рецепторов (ER), содержание которых коррелировало с пролиферативной активностью опухоли, определяемой по наличию протеина Ki-67. Такие антитела были способны индуцировать пролиферацию опухолевых клеток *in vitro*. Такой же активностью обладали антиидиотипические антитела против моноклонального антитела, специфичного к эстрадиолу. Однако участие аутоантител, специфичных к рецептору прогестерона (PR), оставалось неизвестным. Цель настоящей работы — исследовать взаимосвязи сывороточных антиидиотипических аутоантител, специфичных к эстрадиолу и прогестерону (IgG₂-E2 и IgG₂-Pg) с содержанием в опухоли протеина Ki-67 у больных РМЖ. Исследовали IgG₂-E2 и IgG₂-Pg в 204 образцах сыворотки здоровых женщин и 663 образцах сыворотки больных РМЖ с ER⁺/PR⁺ опухолями с помощью ELISA, используя моноклональные антитела против E2 и Pg в качестве адсорбированных антигенов. Ki-67, ER и PR в опухолях исследовали с помощью иммуногистохимических методов. У больных РМЖ I стадии высокие уровни IgG₂-E2 встречались чаще, чем у здоровых женщин (63,9% против 40,2%, $p < 0,001$). У больных РМЖ I стадии с содержанием в опухоли Ki-67 > 14 высокие уровни IgG₂-E2 обнаруживали чаще, чем при Ki-67 ≤ 14 (68,9% против 56,9%, $p = 0,03$). Аналогичные взаимосвязи IgG₂-Pg с Ki-67 у больных РМЖ I стадии отсутствовали. Одновременно низкие индиви-

Адрес для переписки:

Мун Стелла Андреевна
Институт экологии человека 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, 8 (983) 214-71-54.
E-mail: stellamun@yandex.ru

Address for correspondence:

Stella A. Mun
Institute of Human Ecology, Federal Research Center of Coal
and Coal Chemistry, Siberian Branch, Russian Academy
of Sciences
10 Leningradsky Ave
Kemerovo
650065 Russian Federation
Phone: +7 (3842) 57-50-79, +7 (983) 214-71-54.
E-mail: stellamun@yandex.ru

Образец цитирования:

А.Н. Глушков, Е.Г. Поленок, С.А. Мун, Л.А. Гордеева,
А.В. Антонов, П.В. Байрамов, Н.Е. Вержбицкая,
Г.И. Колпинский «Антиидиотипические
аутоантитела, специфичные к стероидным гормонам,
и пролиферативная активность опухоли у больных
раком молочной железы» // Медицинская иммунология,
2024. Т. 26, № 6. С. 1269-1278.
doi: 10.15789/1563-0625-AIA-2874

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

For citation:

A.N. Glushkov, E.G. Polenok, S.A. Mun, L.A. Gordeeva,
A.V. Antonov, P.V. Bairamov, N.E. Verzhbitskaya,
G.I. Kolpinsky "Anti-idiotypic antibodies specific to steroid
hormones and proliferative activity of tumor in breast cancer
patients", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya
Immunologiya, 2024, Vol. 26, no. 6, pp. 1269-1278.
doi: 10.15789/1563-0625-AIA-2874

© Glushkov A.N. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.15789/1563-0625-AIA-2874

дуальные уровни IgG₂-E2 и IgG₂-Pg у больных РМЖ I стадии с Ki-67 ≤ 14 обнаруживали в 55,2%, а с Ki-67 > 30 – в 22,4%. Одновременно высокие уровни IgG₂-E2 и IgG₂-Pg выявлены у 35,7% больных I стадией РМЖ с Ki-67 ≤ 14 и у 28,6% с Ki-67 > 30 (p = 0,03). У больных РМЖ II-IV стадиями с содержанием в опухоли Ki-67 > 30, наоборот, высокие уровни IgG₂-E2 встречались реже, чем при Ki-67 ≤ 14 (49,1% против 64,2%, p = 0,03). Аналогичная взаимосвязь имела место при анализе IgG₂-Pg (47,2% против 62,2%, p = 0,03). Одновременно высокие индивидуальные уровни IgG₂-E2 и IgG₂-Pg у больных РМЖ II-IV стадиями обнаруживали при Ki-67 ≤ 14 и Ki-67 > 30 в 38,0% и 37,0% соответственно. При одновременно низких уровнях исследуемых антител или одного из них (при высоких уровнях другого) соответствующие показатели составили 21,5% и 53,9% (p = 0,003). Таким образом, одновременно высокие уровни IgG₂-E2 и IgG₂-Pg ассоциированы с высокой пролиферативной активностью ER⁺/PR⁺ РМЖ на начальных этапах канцерогенеза (на I стадии) и с низкой при последующем росте опухоли (на II-IV стадиях).

Ключевые слова: рак молочной железы, антиидиотипические антитела к прогестерону, антиидиотипические антитела к эстрадиолу, Ki-67, рецептор прогестерона, рецептор эстрадиола

ANTI-IDIOTYPIC ANTIBODIES SPECIFIC TO STEROID HORMONES AND PROLIFERATIVE ACTIVITY OF TUMOR IN BREAST CANCER PATIENTS

Glushkov A.N.^a, Polenok E.G.^a, Mun S.A.^a, Gordeeva L.A.^a,
Antonov A.V.^b, Bairamov P.V.^b, Verbitskaya N.E.^b, Kolpinsky G.I.^{c,d}

^a Federal Research Center of Coal and Coal Chemistry, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Kemerovo, Russian Federation

^b M. Rappoport Kuzbass Clinical Oncological Dispensary, Kemerovo, Russian Federation

^c Kemerovo State Medical University, Kemerovo, Russian Federation

^d I. Kolpinsky Clinical Consulting and Diagnostic Center, Kemerovo, Russian Federation

Abstract. Nongenomic effects of antibodies specific to membrane steroid receptors are well known. Auto-antibodies against estrogen receptor (ER) were revealed in blood serum of breast cancer patients (BCP). Their serum levels correlated with Ki-67, a protein tumor proliferation marker. Purified antibodies stimulated *in vitro* proliferation of cultured MCF-7 tumor cells. Antiidiotypic antibodies against monoclonal antibodies, specific to estradiol, showed similar agonist activity. However, the function of auto-antibodies against progesterone receptor (PR) remained unknown. The purpose of this study was to search for an association between serum antiidiotypic antibodies specific to estradiol and progesterone (IgG₂-E2 and IgG₂-Pg), and expression of Ki-67 tumor protein in BCP. The IgG₂-E2 and IgG₂-Pg were studied in 204 healthy women and 663 BCP with ER⁺/PR⁺ tumors using ELISA technique with adsorbed monoclonal antibodies against E2 and Pg. Ki-67, ER and PR were detected by immunohistochemical methods. High levels of IgG₂-E2 in stage I BCP were detected more frequently than in healthy women (63.9% vs 40.2%, p < 0.001), being more common in cases with Ki-67 > 14, than with tumors with Ki-67 ≤ 14 (63.9% vs 56.9%, p = 0.03). Similar association of IgG₂-Pg with Ki-67 was not revealed. The individually low levels of both IgG₂-E2 and IgG₂-Pg in stage I BCP with Ki-67 ≤ 14 tumors were found in 55.2%, compared to 22.4% in cases with Ki-67 > 30. The cooperatively high IgG₂-E2 and IgG₂-Pg levels were detected in 35.7% of stage I BCP with Ki-67 ≤ 14 tumors and in 28.6% with Ki-67 > 30 cases (p = 0.03). On the contrary, high IgG₂-E2 levels in BCP II-IV stages with tumor Ki-67 > 30 were less common, than with Ki-67 ≤ 14 (49.1% vs 64.2%, p = 0.03). Similar association was found with IgG₂-Pg (47.2% vs 62.2%, p = 0.03). The cooperatively high individual IgG₂-E2 and IgG₂-Pg levels were detected in BCP at II-IV stages with Ki-67 ≤ 14 and Ki-67 > 30 (respectively, 38.0% and 37.0%). These indices comprised 21.5% and 53.9% when the levels of studied antibodies were low (p = 0.003). In conclusion, high individual levels of both IgG₂-E2 and IgG₂-Pg were associated with high proliferative activity of ER⁺/PR⁺ breast cancer at initial tumor growth (stage I), and with low proliferation rates at subsequent tumor growth (stages II-IV).

Keywords: breast cancer, antibodies, anti-idiotypic, progesterone-specific, estradiol-specific, Ki-67, progesterone receptor, estradiol receptor

Введение

Повсеместный рост заболеваемости раком молочной железы (РМЖ) у женщин остается наиболее актуальной проблемой в плане доклинической диагностики, профилактики и лечения [14]. Не вызывает сомнений роль половых стероидных гормонов в возникновении и росте РМЖ [7]. В частности, показано, что эстрадиол (E2) усиливает прогрессию РМЖ [8], а прогестерон (Pg) ингибирует пролиферацию опухолевых клеток, экспрессирующих рецепторы E2 [11].

Хорошо изучены геномные эффекты стероидных гормонов после их связывания с цитоплазматическими рецепторами и транслокации гормон-рецепторных комплексов в ядро. Вместе с тем известно и внегеномное действие стероидных гормонов, опосредованное мембранными рецепторами E2 и Pg (ER и PR) [3, 6].

Внегеномными эффектами обладают и антитела, специфичные к мембранным стероидным рецепторам, как было показано в экспериментах *in vitro* на различных клеточных моделях. Причем в одних случаях такие антитела выступали как антагонисты соответствующего гормона [9, 12], а в других — как агонисты, т. е. имитировали биологическое действие гормона [15]. В последних экспериментах в качестве антител против ER использовали полученные этими авторами антиидиотипические антитела, направленные против моноклонального антитела, специфичного к E2.

В сыворотке крови больных РМЖ обнаружены аутоантитела против ER, содержание которых прямо коррелировано с пролиферативной активностью опухоли, определяемой по наличию маркера пролиферации — протеина Ki-67. Антитела, выделенные из сыворотки больных РМЖ, были способны распознавать ER эпитопы на поверхности ER⁺ опухолевых клеток линии MCF-7 и индуцировать их пролиферацию [10]. Вместе с тем функции аутоантител против PR, потенциально способных моделировать пролиферативную активность опухолевых клеток, остались неизвестными.

Роль аутоантител против ER и PR могут выполнять антиидиотипические антитела, специфичные к моноклональным антителам против E2 и Pg, уровень которых при определенных условиях оказался выше у больных РМЖ I стадии с ER⁺/PR⁺ опухолями, чем у здоровых женщин [1]. Однако взаимосвязи антиидиотипических аутоантител к стероидным гормонам с пролиферативной активностью опухоли не были исследованы. В том числе оставались неизученными особенности иммуномодуляции пролиферативной активности опухоли такими антителами на различных стадиях заболевания.

Цель настоящей работы — исследовать взаимосвязи сывороточных антиидиотипических аутоантител, специфичных к эстрадиолу и прогестерону (IgG₂-E2 и IgG₂-Pg), с содержанием в опухоли протеина Ki-67 у больных РМЖ.

Материалы и методы

Нами были обследованы 867 женщин в постменопаузе. В исследуемую группу вошли 663 женщины с первично установленным диагнозом «инвазивная карцинома молочной железы неспецифического типа». Все женщины исследуемой группы впервые обратились в Кузбасский клинический онкологический диспансер г. Кемерово. По TNM классификации у большинства женщин была выявлена I и II стадии заболевания (49,3% и 37,6% соответственно), III и IV стадии были выявлены у 12,4% и 0,7% женщин соответственно. Наличие ER, PR и Ki-67 исследовали с помощью стандартных иммуногистохимических методов. Медиана возраста всех женщин составила 65 года (интерквартильный размах 60-71). В группу сравнения были включены 204 условно здоровых женщины без патологии молочной железы. У здоровых женщин медиана возраста составила 57 лет (интерквартильный размах 53-61).

Периферическую кровь для иммуноанализа забирали в соответствии с этическими принципами Хельсинкской декларации (2013) и согласно «Правилам клинической практики в Российской Федерации» (Приказ Минздрава РФ № 266 от 19.06.2003 г.). У всех женщин было взято письменное информированное согласие на участие в обследовании.

Антиидиотипические антитела, специфичные к E2 и Pg (IgG₂-E2, IgG₂-Pg), определяли с помощью коммерческих наборов «ИммуноФА-Эстрадиол» и «ИммуноФА-ПГ» (ЗАО НВО «Иммуно-тех», Москва, Россия) с иммобилизованными на пластике моноклональными антителами против E2 в Pg. Перед внесением образцов сыворотки крови в лунки планшета закапывали блокирующий буферный раствор, содержащий 0,5% бычьего сывороточного альбумина и 0,05% Твин-20, для исключения неспецифической сорбции. Сыворотку крови разводили 1/100 в блокирующем буферном растворе, в лунки вносили по 100 мкл и инкубировали на термостатируемом шейкере при 37 °C в течение 1 ч. Для определения связавшихся с моноклональными антителами против E2 и Pg искомым антиидиотипическим антител в лунки планшета вносили по 100 мкл козьих антител против IgG человека, меченных пероксидазой хрена (Invitrogen, США), с разведением 1/30 000. Инкубировали на термостатируемом шейкере при 37 °C в течение 1 ч. После каждого этапа инкубации планшеты отмывались 4-5 раз натрий-

фосфатным буферным раствором, содержащим 0,05% Твин-20, по 250 мкл в каждую лунку. На последнем этапе в лунки вносили по 100 мкл субстратного буферного раствора, содержащего хромоген 3,3',5,5'-тетраметилбензидин, инкубировали 4 мин в темноте и затем измеряли оптическую плотность на фотометре Multiscan FC (Thermo Scientific, Финляндия) при длине волны 450 нм. Уровни IgG₂-E2 и IgG₂-Pg выражали в условных единицах и рассчитывали по формуле:

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

где X = E2 или Pg; OD_{Х-МАТ} — оптическая плотность связывания сывороточных антиидиотипических антител с моноклональными антителами (МАТ) против E2 или Pg, OD_{фон} — оптическая плотность фонового связывания меченных пероксидазой хрена козьих антител против IgG человека с моноклональными антителами против E2 или Pg без добавления сыворотки крови.

Все полученные данные обрабатывали 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 χ^2 с поправкой Йейтса на непрерывность вариации. Критический уровень значимости принимался

$p < 0,05$. С помощью ROC-анализа [4] были рассчитаны значения порогов отсечения антител (cut-off value), по которым сравниваемые группы имели оптимальные различия. Ассоциации антиидиотипических антител с риском возникновения РМЖ оценивали с помощью величины отношения шансов (OR) с доверительным интервалом (CI) при 95% уровне значимости.

Результаты

Сначала рассчитали пороговые значения (cut-off) уровней исследуемых антиидиотипических антител, по которым больные ER⁺/PR⁺ РМЖ I стадии с содержанием в опухоли Ki-67 ≤ 14 и Ki-67 > 30 имели максимальные различия. Такими оказались 3,5 для IgG₂-E2 и 2,5 для IgG₂-Pg. Затем сравнили здоровых женщин и больных РМЖ I стадии с различным содержанием в опухоли Ki-67 положительных клеток в зависимости от низких и высоких уровней указанных антител.

Оказалось (табл. 1), что у больных ER⁺/PR⁺ РМЖ I стадии высокие уровни IgG₂-E2 $> 3,5$ встречались чаще, чем у здоровых женщин (63,9% против 40,2%, $p < 0,001$, OR = 2,6). При этом удельный вес случаев с высоким содержанием в сыворотке IgG₂-E2 $> 3,5$ составил 56,9% для больных с содержанием в опухоли Ki-67 ≤ 14 ($p = 0,003$, OR = 2,0); 68,8% для Ki-67 в интервале

ТАБЛИЦА 1. ЧИСЛО (n) И ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ (%) НИЗКИХ ($\leq$) И ВЫСОКИХ ($>$) УРОВНЕЙ АНТИИДИОТИПИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ, СПЕЦИФИЧНЫХ К ЭСТРАДИОЛУ И ПРОГЕСТЕРОНУ (IgG₂-E2 и IgG₂-Pg), В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН И БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (РМЖ) I СТАДИИ С ER⁺/PR⁺ ТИПОМ ОПУХОЛИ И С РАЗНЫМ УРОВНЕМ Ki-67

TABLE 1. NUMBER (n) AND PREVALENCE (%) OF LOW ($\leq$) AND HIGH ($>$) LEVELS OF ANTI-IDIOtypic ANTIBODIES SPECIFIC TO ESTRADIOL AND PROGESTERONE (IgG₂-E2 AND IgG₂-Pg) IN THE BLOOD SERUM OF HEALTHY WOMEN AND PATIENTS WITH STAGE I BREAST CANCER (BCP) WITH ER⁺/PR⁺ TUMOR TYPE AND WITH DIFFERENT LEVELS OF Ki-67

Группы Groups	IgG ₂ -E2 $\leq 3,5$	IgG ₂ -E2 $> 3,5$	IgG ₂ -Pg $\leq 2,5$	IgG ₂ -Pg $> 2,5$
	n/% χ^2 (p) OR (95% CI)	n/% χ^2 (p) OR (95% CI)	n/% χ^2 (p) OR (95% CI)	n/% χ^2 (p) OR (95% CI)
1. Здоровые женщины 1. Healthy women	122/59,8	82/40,2	87/42,6	117/57,4
2. РМЖ I стадии 2. BCP I stage ER ⁺ /PR ⁺	118/36,1 27,6 (< 0,001) 0,4 (0,3-0,5)	209/63,9 27,6 (< 0,001) 2,6 (1,8-3,8)	150/45,9 0,4 (0,52) 1,1 (0,8-1,6)	177/54,1 0,4 (0,52) 0,9 (0,6-1,2)
2.1. Ki-67 ≤ 14	59/43,1 8,6 (0,003) 0,5 (0,3-0,8)	78/56,9 8,6 (0,003) 2,0 (1,3-3,1)	70/51,1 2,0 (0,15) 1,4 (0,9-2,2)	67/48,9 2,0 (0,15) 0,7 (0,5-1,1)
2.2. Ki-67 15–30	29/31,2 19,8 (< 0,001) 0,3 (0,2-0,5)	64/68,8 19,8 (< 0,001) 3,3 (2,0-5,5)	34/36,6 0,7 (0,39) 0,8 (0,5-1,3)	59/63,4 0,7 (0,39) 1,3 (0,8-2,1)
2.3. Ki-67 > 30	30/30,9 20,8 (< 0,001) 0,3 (0,2-0,5)	67/69,1 20,8 (< 0,001) 3,3 (2,0-5,6)	46/47,4 0,4 (0,51) 1,2 (0,7-2,0)	51/52,6 0,4 (0,51) 0,8 (0,5-1,3)

15–30 ($p < 0,001$, OR = 3,3) и 69,1% для Ki-67 > 30 ($p < 0,001$, OR = 3,3).

Искомых различий между здоровыми женщинами и больными ER⁺/PR⁺ РМЖ I стадии по удельному весу низких и высоких уровней IgG₂-Pg не было выявлено.

Аналогичное сравнение здоровых женщин и больных РМЖ в зависимости от четырех возможных индивидуальных комбинаций низких и высоких уровней IgG₂-E2 и IgG₂-Pg показало следующее (табл. 2). Одновременно низкие уровни исследуемых антител (комбинация 1) встречались у здоровых женщин в 26,9%, а у больных РМЖ с содержанием в опухоли Ki-67 > 30 в 15,5% ($p = 0,04$, OR = 0,5). Высокие уровни IgG₂-E2 > 3,5 с одновременно низкими уровнями IgG₂-Pg ≤ 2,5 (комбинация 2) у здоровых женщин обнаруживали в 15,7%, а у больных РМЖ Ki-67 > 30 в 32,0% ($p < 0,002$, OR = 2,5). Низкие уровни IgG₂-E2 ≤ 3,5 с одновременно высокими IgG₂-Pg > 2,5 (комбинация 3) встречались у 32,8% здоровых женщин, а у больных РМЖ значительно реже (16,1% и ниже) при любом содержании в опухоли Ki-67 положительных клеток ($p = 0,002$ и $p < 0,001$; OR = 0,4). Комбинация 4, с одновременно высокими уровнями исследуемых антител обнаружена у 24,5 здоровых женщин и была значимо выше у больных РМЖ: 48,4% для Ki-67

15–30 ($p = 0,001$ и $p = 2,9$) и 37,1% для Ki-67 > 30 ($p = 0,03$, OR = 1,8).

Безотносительно содержанию в опухоли Ki-67 высокие уровни IgG₂-E2 встречались чаще у больных I стадией РМЖ, чем у здоровых женщин, независимо от уровней IgG₂-Pg. Вместе с тем при низких уровнях IgG₂-E2 низкие уровни IgG₂-Pg обнаруживали с примерно одинаковой частотой у больных (20,5%) и у здоровых (26,9%), а высокие уровни IgG₂-Pg у больных – значительно реже, чем у здоровых (12,5% против 32,8%, $p = 0,011$).

Далее исследовали особенности распределения низких и высоких уровней IgG₂-E2 и IgG₂-Pg у больных ER⁺/PR⁺ РМЖ I и II-IV стадиями с учетом содержания в опухоли Ki-67 положительных клеток. Предварительно выяснили, что у больных II-IV стадиями по сравнению с I стадией удельный вес опухолей с содержанием Ki-67 ≤ 14 снижался с 41,9% до 26,8%, а с Ki-67 > 30 возрастал до 48,5% с 29,7%. Удельный вес больных с количеством Ki-67 положительных клеток в интервале 15–30 в сравниваемых группах был примерно одинаков (28,4% и 24,7%). Различия между больными ER⁺/PR⁺ РМЖ I и II-IV стадиями по содержанию в опухоли Ki-67 оказались статистически значимыми ($p < 0,001$).

В таблице 3 представлены абсолютные значения и удельные веса низких и высоких уровней

ТАБЛИЦА 2. ЧИСЛО (n) И ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ (%) КОМБИНАЦИЙ НИЗКИХ (≤) И ВЫСОКИХ (>) УРОВНЕЙ АНТИИДИОТИПИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ, СПЕЦИФИЧНЫХ К ЭСТРАДИОЛУ (IgG₂-E2) И ПРОГЕСТЕРОНУ (IgG₂-Pg), В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН И БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (РМЖ) I СТАДИИ С ER⁺/PR⁺ ТИПОМ ОПУХОЛИ И С РАЗНЫМ УРОВНЕМ Ki-67

TABLE 2. NUMBER (n) AND PREVALENCE (%) OF COMBINATIONS OF LOW (≤) AND HIGH (>) LEVELS OF ANTIIDIOTYPIC ANTIBODIES, SPECIFIC TO ESTRADIOL (IgG₂-E2) AND PROGESTERONE (IgG₂-Pg), IN THE BLOOD SERUM OF HEALTHY WOMEN AND BREAST CANCER PATIENTS (BCP) STAGE I WITH ER⁺/PR⁺ TUMOR TYPE AND DIFFERENT LEVELS OF Ki-67

Комбинации антител Antibodies combinations	Здоровые женщины Healthy women	РМЖ I стадии ER ⁺ /PR ⁺ BCP I stage ER ⁺ /PR ⁺		
		Ki-67 ≤ 14	Ki-67 15-30	Ki-67 > 30
	n/%	n/% χ ² (p) OR (95% CI)	n/% χ ² (p) OR (95% CI)	n/% χ ² (p) OR (95% CI)
1. IgG ₂ -E2 ≤ 3,5 + IgG ₂ -Pg ≤ 2,5	55/26,9	37/27,0 0,01 (0,91) 1,0 (0,6-1,6)	15/16,1 3,6 (0,06) 0,5 (0,3-1,0)	15/15,5 4,2 (0,04) 0,5 (0,3-0,9)
2. IgG ₂ -E2 > 3,5 + IgG ₂ -Pg ≤ 2,5	32/15,7	33/24,1 3,2 (0,07) 1,7 (1,0-2,9)	19/20,4 0,7 (0,40) 1,4 (0,7-2,6)	31/32,0 9,6 (0,002) 2,5 (1,4-4,5)
3. IgG ₂ -E2 ≤ 3,5 + IgG ₂ -Pg > 2,5	67/32,8	22/16,1 11,1 (< 0,001) 0,4 (0,2-0,7)	14/15,1 9,3 (0,002) 0,4 (0,2-0,7)	15/15,5 9,2 (0,002) 0,4 (0,2-0,7)
4. IgG ₂ -E2 > 3,5 + IgG ₂ -Pg > 2,5	50/24,5	45/32,8 2,4 (0,12) 1,5 (0,9-2,4)	45/48,4 15,7 (< 0,001) 2,9 (1,7-4,8)	36/37,1 4,5 (0,03) 1,8 (1,1-3,1)

IgG₂-E2 и IgG₂-Pg у больных РМЖ I и II-IV стадиями с учетом содержания в опухоли Ki-67.

У больных с I стадией РМЖ и содержанием в опухоли Ki-67 > 14 (позиция 1.4) удельный вес случаев с высокими уровнями IgG₂-E2 > 3,5 встречались чаще, чем у больных с содержанием Ki-67 ≤ 14 (позиция 1.1): 69,9% против 56,9%, p = 0,03. У больных со II-IV стадиями РМЖ высокие уровни IgG₂-E2 > 3,5 обнаруживали реже при содержании в опухоли Ki-67 > 30 (позиция 1.3) и Ki-67 > 14 (позиция 1.4): 49,1% и 51,2% против 64,2% при содержании Ki-67 ≤ 14 (позиция 1.1) с p = 0,03 и p = 0,04 соответственно.

Высокие уровни IgG₂-E2 > 3,5 у больных ER⁺/PR⁺ РМЖ II-IV стадиями обнаруживали реже, чем у больных I стадией (позиция 1; 54,8% против 63,9%, p = 0,017). Эти различия были статистически значимыми только при сравнении больных с высоким содержанием в опухоли Ki-67 > 30 (позиция 1.3: 49,1% против 69,1%, p = 0,003) и Ki-67 > 14 (позиция 1.4: 51,2% против 69,9%, p < 0,001).

Аналогичные сравнения больных с I и II-IV стадиями с учетом содержания в сыворотке IgG₂-Pg показали следующее. У больных I стадией РМЖ не выявлено искомым взаимосвязей

IgG₂-Pg с Ki-67 в опухоли. У больных II-IV стадиями РМЖ и высоким содержанием в опухоли Ki-67 > 30 (позиция 1.3) уровни IgG₂-Pg > 2,5 встречались реже, чем у больных с Ki-67 ≤ 14 (позиция 1.1): 47,2% против 62,2%, (p = 0,03) и реже, чем у больных с Ki-67 ≤ 30 (позиция 1.5, 59,0% p = 0,04).

Статистически значимые различия между больными РМЖ I и II-IV стадиями по уровням IgG₂-Pg обнаружены только при низком содержании Ki-67 ≤ 14. У больных II-IV стадиями IgG₂-Pg > 2,5 обнаруживали чаще, чем при I стадии (62,2% против 48,9%, p = 0,049).

Результаты исследования взаимосвязей Ki-67 в опухоли с четырьмя возможными комбинациями низких и высоких уровней IgG₂-E2 и IgG₂-Pg в сыворотке крови у больных ER⁺/PR⁺ РМЖ I и II-IV стадий представлены в таблице 4.

У больных с I стадией РМЖ одновременно низкие индивидуальные уровни исследуемых антител обнаружены в 55,2% при низком содержании в опухоли Ki-67 ≤ 14, и в 22,4% при высоком содержании Ki-67 > 30 (комбинация 1). Остальные сочетания низких и высоких уровней IgG₂-E2 и IgG₂-Pg встречались реже при низком содержании в опухоли Ki-67 ≤ 14 (43,1% и ниже)

ТАБЛИЦА 3. ЧИСЛО (n) И ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ (%) НИЗКИХ (≤) И ВЫСОКИХ (>) УРОВНЕЙ АНТИИДИОТИПИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ, СПЕЦИФИЧНЫХ К ЭСТРАДИОЛУ (IgG₂-E2) И ПРОГЕСТЕРОНУ (IgG₂-Pg), В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (РМЖ) I И II-IV СТАДИЙ С ER⁺/PR⁺ ТИПОМ ОПУХОЛИ И С РАЗНЫМ УРОВНЕМ Ki-67

TABLE 3. NUMBER (n) AND PREVALENCE (%) OF LOW (≤) AND HIGH (>) LEVELS OF ANTIIDOTYPIC ANTIBODIES, SPECIFIC TO ESTRADIOL (IgG₂-E2) AND PROGESTERONE (IgG₂-Pg), IN THE BLOOD SERUM OF STAGE I AND STAGES II-IV BREAST CANCER PATIENTS (BCP) WITH ER⁺/PR⁺ TUMOR TYPE AND DIFFERENT LEVELS OF Ki-67

Группы Groups	IgG ₂ -E2				IgG ₂ -Pg			
	РМЖ I стадия BCP I stage		РМЖ II-IV стадии BCP II-IV stages		РМЖ I стадия BCP I stage		РМЖ II-IV стадии BCP II-IV stages	
	≤ 3,5	> 3,5	≤ 3,5	> 3,5	≤ 2,5	> 2,5	≤ 2,5	> 2,5
	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%	n/%
1. РМЖ ER⁺/PR⁺ 1. BCP ER ⁺ /PR ⁺	118/36,1	209/63,9	152/45,2	184/54,8*	150/45,9	177/54,1	157/46,7	179/53,3
1.1. Ki-67 ≤ 14	59/43,1	78/56,9	32/35,6	58/64,2	70/51,1	67/48,9	34/37,8	56/62,2
1.2. Ki-67 15–30	29/31,2	64/68,8	37/44,6	46/55,4	34/36,6	59/63,4	37/44,6	46/55,4
1.3. Ki-67 > 30	30/30,9	67/69,1	83/50,9	80/49,1**	46/47,4	51/52,6	86/52,8	77/47,2
1.4. Ki-67 > 14	59/31,1	131/69,9	120/48,8	126/51,2***	80/42,1	110/57,9	123/50,0	123/50,0
1.5. Ki-67 ≤ 30	88/38,3	142/61,7	69/24,9	104/75,1	104/45,2	126/54,8	71/41,0	102/59,0
χ² (p) 1.1-1.2-1.3, df = 2	4,9 (0,08)		5,5 (0,06)		4,8 (0,09)		5,4 (0,07)	
χ² (p) 1.1-1.3, df = 1	3,0 (0,08)		4,9 (0,03)		0,2 (0,67)		4,6 (0,03)	
χ² (p) 1.1-1.4, df = 1	4,5 (0,03)		4,1 (0,04)		2,2 (0,13)		3,5 (0,06)	
χ² (p) 1.3-1.5, df = 1	1,3 (0,26)		3,7 (0,05)		0,06 (0,81)		4,2 (0,04)	

Примечание. Различия между I и II-IV стадиями: * χ² (p) = 5,4 (0,02); ** χ² (p) = 9,1 (0,003); *** χ² (p) = 13,2 (< 0,001).

Note. Differences between I and stages II-IV: * χ² (p) = 5.4 (0.02); ** χ² (p) = 9.1 (0.003); *** χ² (p) = 13.2 (< 0.001).

ТАБЛИЦА 4. ЧИСЛО (n) И ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ (%) КОМБИНАЦИЙ НИЗКИХ ($\leq$) И ВЫСОКИХ ($>$) УРОВНЕЙ АНТИИДИОТИПЧЕСКИХ АНТИТЕЛ, СПЕЦИФИЧНЫХ К ЭСТРАДИОЛУ ($\text{IgG}_2\text{-E2}$) И ПРОГЕСТЕРОНУ ($\text{IgG}_2\text{-Pg}$), В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (РМЖ) I И II-IV СТАДИЙ С ER^+/PR^+ ТИПОМ ОПУХОЛИ И С РАЗНЫМ УРОВНЕМ Ki-67

TABLE 4. NUMBER (n) AND PREVALENCE (%) OF COMBINATIONS OF LOW ($\leq$) AND HIGH ($>$) LEVELS OF ANTIIDOTYPIC ANTIBODIES, SPECIFIC TO ESTRADIOL ($\text{IgG}_2\text{-E2}$) AND PROGESTERONE ($\text{IgG}_2\text{-Pg}$), IN THE BLOOD SERUM OF STAGE I AND STAGES II-IV BREAST CANCER PATIENTS (BCP) WITH ER^+/PR^+ TUMOR TYPE AND DIFFERENT LEVELS OF Ki-67

Комбинации антител Antibodies combinations	РМЖ ER^+/PR^+ I стадия BCP I stage ER^+/PR^+ (n = 327)			РМЖ ER^+/PR^+ II-IV стадия BCP II-IV stages ER^+/PR^+ (n = 336)		
	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. $\text{IgG}_2\text{-E2} \leq 3,5$ + $\text{IgG}_2\text{-Pg} \leq 2,5$	37/55,2	15/22,4	15/22,4	17/21,0	18/22,2	46/56,8*
2. $\text{IgG}_2\text{-E2} > 3,5$ + $\text{IgG}_2\text{-Pg} \leq 2,5$	33/39,8	19/22,9	31/37,3	17/22,4	19/25,0	40/52,6
3. $\text{IgG}_2\text{-E2} \leq 3,5$ + $\text{IgG}_2\text{-Pg} > 2,5$	22/43,1	14/27,5	15/29,4	15/21,1	19/26,8	37/52,1**
4. $\text{IgG}_2\text{-E2} > 3,5$ + $\text{IgG}_2\text{-Pg} > 2,5$	45/35,7	45/35,7	36/28,6	41/38,0	27/25,0	40/37,0
5. Комбинации 5. Combinations 2+3+4	100/38,5	78/30,0	82/31,5	73/28,6	65/25,5	117/45,9
6. Комбинации 6. Combinations 1+2+3	92/45,8	48/23,9	61/30,3	49/21,5	56/24,6	123/53,9
χ^2 (p) 1-2, df = 2	4,6 (0,10)			0,3 (0,87)		
χ^2 (p) 1-3, df = 2	1,7 (0,43)			0,5 (0,79)		
χ^2 (p) 1-4, df = 2	7,1 (0,03)			8,5 (0,02)		
χ^2 (p) 1-5, df = 2	6,2 (0,046)			3,1 (0,21)		
χ^2 (p) 4-6, df = 2	5,8 (0,06)			11,7 (0,003)		

Примечание. Различия между I и II-IV стадиями: * χ^2 (p) = 22,3 (< 0,001); ** χ^2 (p) = 8,3 (0,02).

Note. Differences between I and stages II-IV: * χ^2 (p) = 22.3 (< 0.001); ** χ^2 (p) = 8.3 (0.02).

и чаще при высоком содержании Ki-67 > 30 (28,6 и выше). Статистически значимые различия (p = 0,03) проявились при сравнении больных I стадией РМЖ с одновременно низкими уровнями исследуемых антител с больными, у которых уровни $\text{IgG}_2\text{-E2}$ и $\text{IgG}_2\text{-Pg}$ были одновременно высокими (комбинация 4). Объединение сочетаний 2+3+4 показало, что в этой выделенной подгруппе (комбинация 5) опухоли с низким содержанием Ki-67 ≤ 14 встречались в 38,5%, а с высоким — 31,5%. Различия с 1-й подгруппой тоже были статистически значимыми (p = 0,046).

У больных со II-IV стадиями РМЖ, напротив, одновременно низкие уровни $\text{IgG}_2\text{-E2}$ и $\text{IgG}_2\text{-Pg}$ (комбинация 1) или каждого из них по-отдельности при наличии высокого уровня $\text{IgG}_2\text{-E2}$ или $\text{IgG}_2\text{-Pg}$ (комбинации 2 и 3) обнаруживали реже (22,4% и ниже) при низком со-

держании в опухоли Ki-67 ≤ 14 и чаще (52,1% и выше) при высоком содержании Ki-67 > 30 , чем при одновременно высоких уровнях исследуемых антител (комбинация 4: 38,0% и 37,0%, соответственно). Различия между подгруппами 1 и 4 были статистически достоверными (p = 0,02). Объединение сочетаний 1+2+3 показало, что в этой выделенной подгруппе (комбинация 6) опухоли с Ki-67 ≤ 14 встречались в 21,5%, а Ki-67 > 30 — в 53,9%. Различия с 4 подгруппой оказались более значимыми (p = 0,003).

Снижение удельного веса больных с низким содержанием в опухоли Ki-67 ≤ 14 и соответствующее повышение — Ki-67 > 30 при II-IV стадиях РМЖ по сравнению с I стадией имело место только при одновременно низких уровнях $\text{IgG}_2\text{-E2}$ и $\text{IgG}_2\text{-Pg}$ (комбинация 1) или одного из них (комбинации 2 и 3). Наиболее выраженные раз-

личия в этом сопоставлении были характерными для больных с одновременно низкими уровнями исследованных антител ($p < 0,001$). При одновременно высоких уровнях IgG₂-E2 и IgG₂-Pg различия между больными I и II-IV стадиями по удельным весам опухолей с низким и высоким содержанием Ki-67 отсутствовали ($p = 0,17$).

Обсуждение

Анализ маркера клеточной пролиферации протеина Ki-67 является обязательным для диагностики молекулярно-биологического подтипа РМЖ и выбора наиболее оптимальной схемы адъювантной химиотерапии [2, 5]. В связи с этим представляет особый интерес изучение эндогенных факторов организма, влияющих на пролиферативную активность опухоли, отображаемую в количестве Ki-67 позитивных злокачественных клеток.

В частности, показано, что уровень сывороточных аутоантител, специфичных к ER, у 48 больных РМЖ превышал таковой у 75 здоровых женщин и их уровень коррелировал с количеством опухолевых клеток, экспрессирующих Ki-67 [10]. Присутствие таких антител в сыворотке не зависело от экспрессии ER, PR и рецептора эпидермального фактора роста, а также со стадией заболевания. Обнаружение анти-ER α -антител у пациентов с ER⁺ и ER⁻ опухолями послужило основанием предполагать, что они появляются на ранних стадиях канцерогенеза, до потери ER опухолевыми клетками. Не было исследовано взаимосвязей уровней анти-PR антител в модуляции пролиферации опухолевых клеток, хотя влияние Pg на E2-индуцированную пролиферацию ER⁺ клеток хорошо известно [11].

В качестве адсорбированного антигена в ELISA Maselli A. и соавт. [10] использовали рекомбинантный ER α . В нашей работе в качестве антигена были использованы моноклональные антитела против E2 и Pg, поскольку выявленные с их помощью антиидиотипические антитела обладают специфичностью к ER и PR, как это было показано в экспериментах ранее [15].

Нами исследованы IgG₂-E2 и IgG₂-Pg в сыворотках крови 204 условно здоровых женщин, 327 больных РМЖ I стадии (в начале заболевания) и 336 больных РМЖ II-IV стадий (в процессе опухолевого роста). Поскольку предполагалось исследовать совместное влияние IgG₂-E2 и IgG₂-Pg на пролиферацию опухолевых клеток, были отобраны только пациенты с ER⁺/PR⁺ РМЖ.

У всех больных с I стадией высокие уровни сывороточных IgG₂-E2 встречались чаще (63,9%), чем у здоровых женщин (40,2%, $p < 0,001$). При этом у больных с высоким содержанием в опухоли Ki-67 положительных клеток ($> 14\%$) вы-

сокие уровни IgG₂-E2 обнаруживали чаще, чем у больных с низким содержанием Ki-67 ≤ 14 (69,9% против 56,9%, $p = 0,03$). Таким образом, подтвердили результаты [10] о стимулирующем пролиферацию опухоли действии IgG₂-E2 на начальном этапе заболевания. Не выявили подобных взаимосвязей при анализе IgG₂-Pg.

При анализе возможных комбинаций высоких и низких уровней исследуемых антител выяснилось следующее. Высокие уровни IgG₂-E2 встречались чаще у больных с I стадией РМЖ, чем у здоровых женщин, независимо от уровней IgG₂-Pg. Вместе с тем при низких уровнях IgG₂-E2 высокие уровни IgG₂-Pg обнаруживали у больных значительно реже, чем у здоровых (12,5% против 32,8%) по сравнению с комбинацией одновременно низких уровней и IgG₂-E2, и IgG₂-Pg (20,5% против 26,9%, соответственно; $p = 0,011$). Таким образом, впервые обнаружили, что IgG₂-E2 стимулируют возникновение РМЖ независимо от уровней IgG₂-Pg, а IgG₂-Pg ингибируют возникновение РМЖ только при низких уровнях IgG₂-E2. Это позволяет сделать предположение о взаимном влиянии IgG₂-E2 и IgG₂-Pg на пролиферацию нормальных клеток молочной железы в процессе их малигнизации.

Подтверждением является то, что только при одновременно низких уровнях исследуемых антител у больных с I стадией РМЖ опухоли с низким содержанием Ki-67 ≤ 14 положительных клеток встречаются значительно чаще (55,0%), чем с высоким Ki-67 > 30 в 22,4%. При наличии высокого уровня хотя бы одного из них (при низком другого) или при одновременно их высоких уровнях соответствующие показатели 38,5% и 31,5% ($p = 0,046$).

Особый интерес представляют результаты исследования сочетанного влияния IgG₂-E2 и IgG₂-Pg на содержание в опухоли Ki-67 положительных клеток у больных со II-IV стадиями РМЖ. Оказалось, что при одновременно высоких уровнях исследуемых антител опухоли с низким и высоким содержанием Ki-67 положительных клеток встречаются с одинаковой частотой: Ki-67 ≤ 14 – в 38,0%, а Ki-67 > 30 – в 37,0%. Если же в сыворотке уровни IgG₂-E2 и IgG₂-Pg были одновременно низкими или низкими были уровни одного из них (при высоких уровнях другого), то опухоли с низким содержанием Ki-67 положительных клеток (≤ 14) встречались значительно реже (21,5%), а с высоким (> 30) чаще (53,9%, $p = 0,003$).

Значительное снижение удельного веса опухолей с низким содержанием Ki-67 положительных клеток с 45,8% до 21,5% и соответствующее повышение удельного веса опухолей с высоким содержанием Ki-67 положительных клеток с 30,3%

до 53,9% у больных с II-IV стадиями РМЖ по сравнению с I стадией (т. е. стимуляция пролиферации) имело место только при одновременно низких уровнях исследуемых антител или одного из них (при высоких уровнях другого). Подобных изменений в случае с одновременно высокими уровнями IgG₂-E2 и IgG₂-Pg не происходило.

Иными словами, стимуляция пролиферации опухолевых клеток у больных с ER⁺/PR⁺ РМЖ I стадии происходила при одновременно высоких уровнях IgG₂-E2 и IgG₂-Pg или хотя бы одного из них. Угнетение пролиферации наблюдалось только при их одновременно низких уровнях. В отличие от этого, у больных со II-IV стадиями РМЖ стимуляция пролиферации ER⁺/PR⁺ опухолей имела место при одновременно низких уровнях IgG₂-E2 и IgG₂-Pg или хотя бы одного из них. Угнетение пролиферации наблюдалось только при их одновременно высоких уровнях.

Таким образом, низкие уровни IgG₂-E2 и/или IgG₂-Pg у больных с I стадией ER⁺/PR⁺ РМЖ можно считать негативным прогностическим признаком возрастания пролиферативной активности опухоли при последующем росте.

Поскольку у больных со II-IV стадиями ER⁺/PR⁺ РМЖ эндогенные аутоантитела IgG₂-E2 в комбинации с IgG₂-Pg, вероятно, действуют как ингибиторы пролиферации, а их недостаток взаимосвязан с высокой пролиферативной ак-

тивностью опухоли, возникает вопрос, можно ли использовать экзогенные антитела против ER и/или PR (в зависимости от комбинаций соответствующих антиидиотипических аутоантител) в качестве ингибиторов пролиферации по аналогии с известными антителами против рецептора эпидермального фактора роста (анти-HER-2 герцептин), применяемыми в комплексе адъювантной терапии РМЖ?

Заключение

На основании полученных результатов иммуноанализ IgG₂-E2 и IgG₂-Pg можно рекомендовать в качестве дополнительного метода определения индивидуального риска возникновения ER⁺/PR⁺ РМЖ у здоровых женщин для его профилактики, а также метода оценки прогноза пролиферативной активности при росте опухоли у больных РМЖ для коррекции лечения с помощью селективных модуляторов ER [13]. Представляется перспективным создание антител против стероидных рецепторов в качестве ингибиторов внегеномного стимулирующего пролиферацию опухоли действия E2 и/или Pg для лечения распространенного РМЖ. Дальнейшие исследования в этом направлении позволят определить роль антиидиотипических аутоантител, специфичных к стероидным гормонам, в патогенезе других гормонозависимых опухолей.

Список литературы / References

1. 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 immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2023, Vol. 25, no. 1, pp. 35-48. (In Russ.)] doi: 10.46235/1028-7221-1177-CO.
2. Brown J., Scardo S., Method M., Schlauch D., Misch A., Picard S., Hamilton E., Jones S., Burris H., Spigel D. A real-world retrospective study of the use of Ki-67 testing and treatment patterns in patients with HR⁺, HER2⁺ early breast cancer in the United States. *BMC Cancer*, 2022, Vol. 22, no. 1, 502. doi: 10.1186/s12885-022-09557-6.
3. 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.
4. 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.
5. Hacking S.M., Wang Y. Practical issues of Ki-67 evaluation in breast cancer clinical practice. *J. Clin. Transl. Pathol.*, 2022, Vol. 2, no. 2, pp. 53-56.
6. 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_x). *Steroids*, 2012, Vol. 77, no. 10, pp. 959-967.
7. Kim J.Y., Han W., Moon H.G., Ahn S.K., Kim J., Lee J.W., Kim M.K., Kim T., Noh D.Y. Prognostic effect of preoperative serum estradiol level in postmenopausal breast cancer. *BMC Cancer*, 2013, Vol. 13, 503. doi: 10.1186/1471-2407-13-503.
8. Li Q., Gao H., Yang H., Wei W., Jiang Y. Estradiol promotes the progression of ER⁺ breast cancer through methylation-mediated RSK4 inactivation. *Onco Targets 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. *Oncoimmunology*, 2016, Vol. 5, no. 2, pp. 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 ERα 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-α 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. Sestak I. Preventative therapies for healthy women at high risk of breast cancer. *Cancer Manag. Res.*, 2014, Vol. 6, pp. 423-430.
14. Siegel R.L., Miller K.D., Fuchs H.E., Jemal A. Cancer statistics, 2022. *CA Cancer J. Clin.*, 2022, Vol. 72, no. 1, pp. 7-33.
15. 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

Мун С.А. — к.м.н., доцент, старший научный сотрудник лаборатории иммуногенетики 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

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

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

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

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

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

Mun S.A., PhD (Medicine), Senior 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

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

Antonov A.V., Head, Breast Cancer Department, M. Rappoport Kuzbass Clinical Oncological Dispensary, Kemerovo, Russian Federation

Bairamov P.V., Main Physician, Pathologoanatomical Department, M. Rappoport Kuzbass Clinical Oncological Dispensary, Kemerovo, Russian Federation

Verzhbitskaya N.E., PhD (Medicine), Pathologist, Pathologoanatomical Department, M. Rappoport Kuzbass Clinical Oncological Dispensary, Kemerovo, Russian Federation

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

Поступила 26.05.2023
Отправлена на доработку 20.06.2023
Принята к печати 04.10.2023

Received 26.05.2023
Revision received 20.06.2023
Accepted 04.10.2023