

ЗАЛЕЖНІСТЬ ПРОЦЕСІВ МЕТАСТАЗУВАННЯ ВІД РЕЦЕПТОРНОГО ПРОФІЛЮ ТА ВІКУ ХВОРИХ НА РАК МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

Т. Лихолат

*Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара
пр. Гагаріна, 72, Дніпропетровськ 49010, Україна
e-mail: Lykholat2006@ukr.net*

Був досліджений рецепторний статус жінок, хворих на рак молочної залози віком 40–50 років і старших 50 років. Встановлені відмінності рецепторного профілю між первинною пухлиною та метастазуючим раком тканини молочної залози залежно від віку пацієнтів. Особливо агресивними є пухлини з фенотипами рецепторного статусу дуплет-негатив ER-/PGR- і з ER+/PGR+ субтипом. У випадку подібного сполучення визначається гіперрезистентність до лікування.

Ключові слова: рак молочної залози, рецепторний статус, рецептори естрогену та прогестерону.

Рак молочної залози (РМЗ) в Україні, як і у всіх промислово розвинутих країнах, – найчастіша злоякісна пухлина в жінок. За частотою захворюваності рак молочної залози вийшов на перше місце, випередивши не тільки рак шийки матки, але й рак шлунка, рак легень та інші пухлини, які трапляються у жінок і чоловіків. Переважно хворіють жінки віком 40–50 років. У молодому віці захворювання має більш злоякісний характер. У розвитку раку молочної залози істотну роль відіграють попередні патологічні процеси в її тканинах, причинами яких слугує ряд ендокринних порушень.

«Гормональний анамнез» кожної жінки є важливим чинником, який визначає ризик розвитку в неї раку молочної залози. Естроген – група жіночих статевих гормонів, які синтезуються в організмі яєчниками і регулюють специфічні статеві функції. Надмірний рівень естрогену в організмі буває причиною захворювань різного ступеня тяжкості у жінок (особливо літнього віку): він здатний викликати рак матки і грудей [7]. Багато злоякісних клітин молочної залози містять білки, які є рецепторами естрогену. Естроген, очевидно, зв'язується з цими рецепторами і проникає у клітину, індукуючи її неконтрольований поділ.

Прогестерон – основний гормон жовтого тіла яєчників (інакше – гестаген). За хімічною будовою це стероїдний гормон $C_{21}H_{30}O_2$ з молярною масою 314,46 кДа [10]. Рецептор прогестерону побудований подібно до рецепторів інших стероїдних гормонів. Ефект прогестерону, як вважають, подібний до впливу естрогену: він також посилює проліферацію мамарного епітелію, беручи участь у виникненні новоутворень молочної залози. У той же час феномен прогестерону є важливим для пояснення резистентності, яка поступово розвивається, до стероїдів у міру прогресу раку цього органа [8].

Внутрішньоклітинна концентрація рецепторів до естрогену (ER) і прогестерону (PGR) сприяє здійсненню регуляції взаємного впливу між паренхімою і стромою в молочної залозі. У нормі в епітелії молочної залози спостерігається невисокий рівень генів, які кодують експресію ER і PGR (7–30% клітин залежно від фази циклу або гормонального фону), тоді як у разі злоякісної трансформації експресія обох маркерів значно підвищується. У стромі молочної залози не спостерігається їх експресії, незважаючи на те, що у фібробластах виявлені рецептори до ER і PGR. Стероїдні гормони, зокрема, рецептори до

естрогену і прогестерону (ER і PGR), мають велике значення в онкогенезі та пухлинній прогресії [3, 4].

Надзвичайно важливим для вибору науково обґрунтованої терапії хворих з діагнозом РМЗ є наявність/вірогідність процесів метастазування. Механізми процесу метастазування за раку молочної залози остаточно не з'ясовані. Факторами-тригерами метастазів є гетерогенність пухлини, генетична нестабільність пухлинних клітин, локальне чи системне лікування, часовий інтервал між первинною пухлиною та метастазами, технології визначення рецепторного статусу [1].

Метою представленої роботи було дослідити рецепторний статус хворих на рак молочної залози залежно від віку, оцінити силу сигналу рецепторної відповіді за наявності чи відсутності регіонарних метастазів для визначення окремих механізмів проліферативних процесів у тканині молочної залози.

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження були біоптати тканини молочної залози пацієнтів, яким провели оперативне втручання з приводу онкологічних захворювань органа. В роботі досліджували тканини молочної залози, взяті у хворих на РМЗ віком 40–50 років (n=94), які мали метастази у регіонарні лімфовузли (n=13), і такі, у яких метастази були відсутні (n=81), та старші 50 років (n=352) з метастазами (n=46) і без метастазів (n=306). Наявність метастазів визначали шляхом цитологічного аналізу регіонарних лімфатичних вузлів.

Для визначення рецепторного статусу тканини молочної залози пацієнтів, хворих на РМЗ, застосовували імуногістохімічний метод: фіксували вміст рецепторів естрогену (ER) та прогестерону (PGR). Роботу проводили з використанням методики непрямого двокрокового стадійного імуногістохімічного дослідження за системою "Mouse/Rabbit Poly Vue HRP/DAB" [2, 11]. Використовували моноклональні мишачі антитіла (розведення 1:100 v/v) до рецепторів естрогену та кролячі поліклональні антитіла до рецепторів прогестерону (розведення 1:1000 v/v). Підрахунок імунопозитивних клітин проводили у ділянках з максимальним проявленням діамінобензидину на 200–300 пухлинних клітин на мікроскопі «Axioskop» (OPTON, West Germany). Експресію з антитілами до ER та PGR оцінювали як позитивну при інтенсивному темно-коричневому забарвленні ядер.

Результати і їхнє обговорення

У ході проведеної роботи з використанням імуногістохімічного методу у жінок, хворих на онкологічну патологію молочної залози, були отримані наступні результати.

При аналізі загальної сукупності пацієнтів (n=432) чисельність хворих жінок у групі віком від 50 і старших в 6,2 разу переважала чисельність таких у групі, де вік жінок становив 40–50 років.

Порівняльний аналіз сили сигналу, який залежить від концентрації маркера ER в обох вікових групах хворих на РМЗ, виявив, що кількість зразків, у яких хімічний сигнал був відсутній, становила 29%. Відповідь у діапазоні концентрацій ER 1–100 імунопозитивних клітин спостерігали у 22% зразків, 101–200 – 40%, 201–300 – 9% тканинних зразків (рис. 1).

Відсутність імунохімічної відповіді на рецептори прогестерону (PGR) зафіксована у 34,5% зразків. Сигнал силою 1–100 імунопозитивних клітин спостерігали у 29% досліджених зразків, 101–200 – 26%, 201–300 – 10,5% біоптатів (рис. 2).

Проведений аналіз залежності рецепторного статусу від вікового чинника виявив, що для групи віком 40–50 років ER був відсутній у 41% зразків, визначався в межах 1–100 забарвлених ядер у 30% випадків, 101–200 – 26%, 201–300 – у 3% випадків (рис. 1).

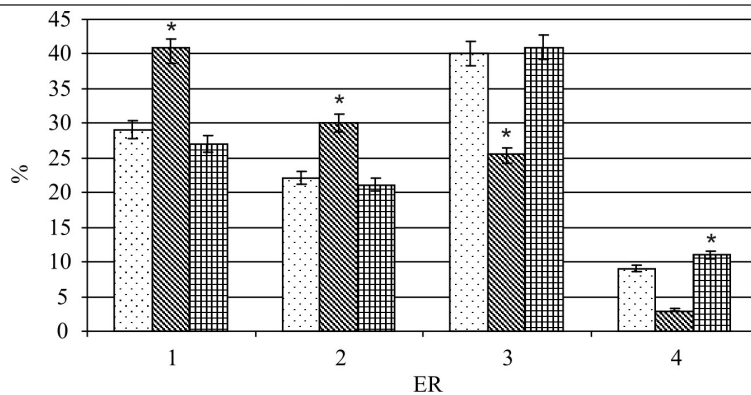


Рис. 1. Порівняння вмісту рецепторів естрогену у тканині біоптатів хворих на РМЗ залежно від віку пацієнтів. Досліджувані показники концентрації ER (кількість імунопозитивних клітин): 1 – 0; 2 – 1–100; 3 – 101–200; 4 – 201–300. Групи: □ – загальна кількість хворих, ▨ – хворі віком від 40 до 50 років, ▩ – хворі віком старші 50 років.* – відхилення, вірогідні щодо загальної кількості хворих ($p \leq 0,05$).

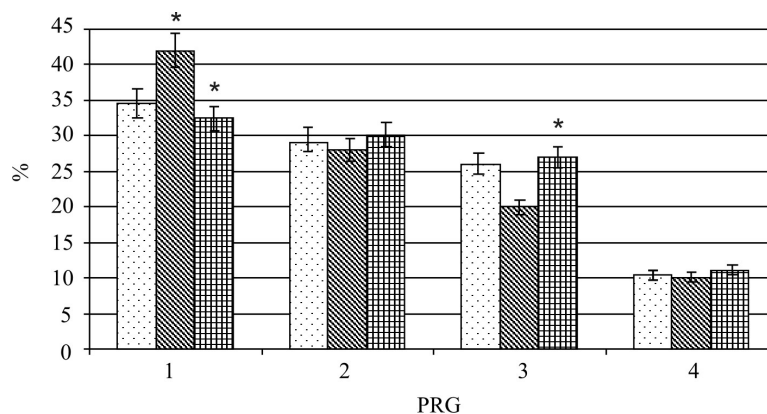


Рис. 2. Порівняння вмісту рецепторів прогестерону у тканині біоптатів хворих на РМЗ залежно від віку пацієнтів. Досліджувані показники концентрації PRG (кількість імунопозитивних клітин): 1 – 0; 2 – 1–100; 3 – 101–200; 4 – 201–300. Групи: □ – загальна кількість хворих, ▨ – хворі віком від 40 до 50 років, ▩ – хворі віком старші 50 років.* – відхилення, вірогідні щодо загальної кількості хворих ($p \leq 0,05$).

Стосовно PRG групу, де рівень сигналу був негативним, становили 42% обстежених. У 28% випадків сила відповіді перебувала у межах 1–100 імунопозитивних клітин, 101–200 – 20%, 201–300 – 10%, відповідно (рис. 2).

Аналіз рецепторної відповіді у групі, яку становили хворі віком старші 50 років, дав змогу встановити таку залежність. Негативна відповідь за рівнем ER зафіксована у 27% зразків. Відповідь у діапазоні 1–100 клітин спостерігалась у 21% біоптатів, 101–200 – 41%, 201–300 – 11% досліджених тканинних зразків (рис. 1).

Не відзначено відповіді за вмістом PRG у 32% зразків. Сила сигналу в межах 1–100 імуновізуалізованих клітин знайдена у 30% зразків, 101–200 – 27%, 201–300 – 11% біоптатів (рис. 2).

Таким чином, отримані результати свідчать, що приблизно 76% первинних пухлин тканин молочної залози мали позитивний статус рецепторів естрогену (за літературними

даними 75% [5]). Рівні естрогену та прогестерону підвищувалися з віком пацієнтів, що узгоджується з даними, отриманими Finn et al. [6]. Фенотип пухлин ER+/PGR- частіше визначали у хворих старшого віку, що також збіглося з даними літературних джерел [9].

Аналіз отриманих даних щодо залежності процесів метастазування відповідно до вмісту рецепторів стероїдних гормонів у пацієнтів різних вікових груп показав, що для групи, яку становили хворі віком 40–50 років із метастазами, негативна відповідь за рівнем ER спостерігалась у 23% досліджених зразків, тоді як подібний феномен визначали у 41% пацієнтів, що не мали метастазів, сигнал у межах 1–100 імунопозитивних клітин – у 38% і 30%, 101–200 – 31% і 26%, 201–300 – 8% і 3% біопатів, відповідно (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст рецепторів естрогену у тканині біопатів хворих на РМЗ залежно від віку пацієнтів, n (%)

Діапазон концентрацій	Хворі без метастазів, n (%)		Хворі з метастазами, n (%)	
	40–50 років	старші 50 років	40–50 років	старші 50 років
0	27 (41)	82 (27)	3 (23)	19 (41)
1–100	20 (30)	65 (21)	5 (38)	11 (23)
101–200	17 (26)	125 (41)	4 (31)	15 (32)
201–300	2 (3)	34 (11)	1 (8)	2 (4)

PGR був відсутній у 25% імуногістохімічних зразків тканин пацієнтів віком 40–50 років, що мали регіонарні метастази, та 42% біопатів хворих із відсутністю метастазів. Рівень PGR у діапазоні 1–100 імунопозитивних клітин детермінований у 37,5% і 28%, 101–200 – 37,5% і 20% випадків, відповідно (табл. 2).

Таблиця 2

Вміст рецепторів прогестерону у тканині біопатів хворих на РМЗ залежно від віку пацієнтів, n (%)

Діапазон концентрацій	Хворі без метастазів, n (%)		Хворі з метастазами, n (%)	
	40–50 років	старші 50 років	40–50 років	старші 50 років
0	34 (42)	97 (32)	2 (25)	24 (52)
1–100	23 (28)	88 (30)	3 (37,5)	6 (13)
101–200	16 (20)	82 (27)	3 (37,5)	15 (33)
201–300	8 (10)	32 (11)	0 (0)	1 (2)

Для групи пацієнтів старших 50 років визначали таку тенденцію. Не спостерігали зв'язування ER із рецептором у 41% хворих, що мали метастази, та 27% пацієнтів, у яких метастази були відсутні. Відповідь силою 1–100 імуновізуалізованих клітин зафіксована у 23% і 21% випадків, 101–200 – 32% і 41%, 201–300 – 4% і 11% випадків, відповідно (табл. 1).

Зв'язування PGR з облігатними рецепторами у пацієнтів старшої вікової групи не зафіксоване у 32% пацієнтів з неметастазуючою пухлиною та 52% хворих з метастазами, сила імунохімічної відповіді становила 1–100 клітин у 30% та 13%, 101–200 – 27% та 33%, 201–300 клітин – 11% та 2%, відповідно (табл. 2).

Відзначені зміни рецепторного профілю між первинною пухлиною та метастазуючим раком тканини молочної залози свідчать, що за наявності процесів метастазування зниження рівня PGR визначали значно частіше, ніж зниження рівня ER: позитивний статус ER у первинній пухлині був значно вищим, ніж у метастазуючих зразках, тоді як між позитивними рівнями PGR не було значної різниці для первинної та метастазуючої пухлини. Для пацієнтів із фенотипом пухлини ER+/PGR+ характерним є зниження ризику за локальними рецидивами пухлини. Фенотип пухлини ER-/PGR- є важливим прогностичним

чинником високого ризику віддалених метастазів, що узгоджується з раніше отриманими даними [5, 12].

Таким чином, при дослідженні особливостей рецепторного профілю при процесах пухлиноутворення та метастазування у тканині молочної залози в жінок залежно від віку встановлено:

1. З віком ризик захворювання на рак молочної залози зростає, що є наслідком порушення гормонального профілю як в організмі жінки в цілому, так і локально-регіонального стероїдного статусу.

2. У жінок віком 40–50 років, які хворіють на рак молочної залози, ризик розвитку процесів метастазування вищий, ніж у жінок віком 50 років і старших, що пояснюється гальмуванням метаболічних процесів з віком.

3. Локальний біосинтез естрогену відіграє інтегральну роль у розвитку гормон-залежного раку молочної залози: приблизно 76% первинних пухлин тканин молочної залози мали позитивний статус рецепторів естрогену.

4. У жінок старшої вікової групи зв'язування естрогену з відповідним рецептором (ER+) спостерігається частіше (73% випадків), ніж у жінок віком 40–50 років (59% випадків).

5. Фенотип пухлин ER+/PGR- частіше визначали у хворих старшого віку. У цих хворих зниження рівня PGR визначали значно частіше, ніж зниження рівня ER.

6. Виявлені відмінності рецепторного профілю між первинною пухлиною та метастазуючим раком тканини молочної залози. У метастазуючих пухлинах дискоординація рецепторів гормонів може відбуватися в двох напрямках, однак альтерація у більшості випадків проявлялася зниженням позитивності рецепторного статусу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Грибач С. М., Бородай Н. В., Чехун В. Ф. Клініко-біологічні особливості перебігу раку молочної залози у хворих похилого віку // Онкологія. 2011. Т. 13. № 4. С. 260–265.
2. Петров С. В., Райхлин Н. Т. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. Казань, 2004. 452 с.
3. Семиглазов В. Ф., Нургазиев К. Ш., Арзуманов А. С. Опухоли молочной железы (лечение и профилактика). Алматы, 2005. 425 с.
4. Broom R. J. Changes in estrogen receptor, progesterone receptor and Her-2/neu status with time: discordance rates between primary and metastatic breast cancer // *Anticancer Res.* 2009. Vol. 29. (5). P. 1557–1562.
5. Filipovic S., Kocic B., Petrovic B. et al. Hormone sensitivity of primary breast carcinoma // *J. BUON.* 2010. Vol. 15 (2). P. 255–262.
6. Finn R. S. Estrogen receptor, progesterone receptor, human epidermal growth factor receptor 2 (HER2), and epidermal growth factor receptor expression and benefit from lapatinib in a randomized trial of paclitaxel with lapatinib or placebo as first-line treatment in HER2-negative or unknown metastatic breast cancer // *Breast Cancer Res.* 2008. Vol. 9 (5). P. 117.
7. Ioakim Liossi A. Expression of pS2 protein and estrogen and progesterone receptor status in breast cancer // *Acta Cytol.* 2007. Vol. 41. N 3. P. 713–716.
8. Hackle E. Epidermal growth factor receptors: critical mediators of multiple receptor pathways // *Current Opinion on Cell Biol.* 1999. Vol. 11. P. 184–189.
9. Harrell J. C., Dye W. W., Harvell D. M. et al. Estrogen insensitivity in a model of estrogen receptor positive breast cancer lymph node metastasis // *Cancer Res.* 2007. Vol. 67 (21). P. 10582–10591.

10. *Holmes F. A., Fritsche H. A., Loewy J. W.* et al. Measurement of estrogen and progesterone receptors in human breast tumors: enzyme immunoassay versus binding assay // *J. Clin Oncol.* 1990. Vol. 8. P. 1025–1035.
11. *Huang H. J.* Association between tumour characteristics and HER-2/neu by immunohistochemistry in 1362 women with primary operable breast cancer // *Clin. Pathol.* 2005. Vol. 58. N 6. P. 611–616.
12. *Wang S. L., Li Y. X., Song Y. W.* et al. Prognostic value of estrogen receptor, progesterone receptor and human epidermal growth factor receptor-2 in node positive breast cancer patients treated by mastectomy // *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi.* 2010. Jul. 32(7). P. 520–525.

Стаття: надійшла до редакції 21.02.12

доопрацьована 23.03.12

прийнята до друку 11.04.12

METASTASIS PROCESSES DEPENDENCE ON RECEPTOR PROFILE AND AGE OF THE PATIENTS WITH BREAST CANCER

T. Lykholat

*Oles Gonchar Dnipropetrovsk National University
72, Gagarin Ave., Dnipropetrovsk 49010, Ukraine
e-mail: Lykholat2006@ukr.net*

Receptor status of women with breast cancer aged 40–50 and over 50 years was studied. Differences between the receptor profile of the primary tumor and metastasis cancers of the breast tissue have been established. The tumor phenotypes receptor status double-negative ER-/PGR- and ER+/PGR+ subtype is especially aggressive. At this subtype combination hyperresistance to treatment is determined.

Keywords: breast cancer, receptor status, estrogen and progesterone receptors.

ЗАВИСИМОСТЬ ПРОЦЕССА МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ ОТ РЕЦЕПТОРНОГО ПРОФИЛЯ И ВОЗРАСТА БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Т. Лихолат

*Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара
пр. Гагарина, 72, Днепропетровск 49010, Украина
e-mail: Lykholat2006@ukr.net*

Был исследован рецепторный статус женщин, больных раком молочной железы в возрасте 40–50 лет и старше 50 лет. Установлены различия рецепторного профиля между первичной опухолью и метастазирующим раком ткани молочной железы. Особенно агрессивными являются опухоли с фенотипами рецепторного статуса дуплет-негатив ER-/PGR- и с ER+/PGR+ субтипом. В случае подобного сочетания определяется гиперрезистентность к лечению.

Ключевые слова: рак молочной железы, рецепторный статус, рецепторы эстрогена и прогестерона.