

И.Е. Седяков
И.И. Зинкович
О.П. Шатова

Донецкий национальный
медицинский университет
им. М. Горького

Донецкий областной
противоопухолевый центр,
Донецк, Украина

Ключевые слова: рак молочной
железы, метастазы, рецепторы
эстрогенов.

ЭКСПРЕССИЯ РЕЦЕПТОРОВ ЭСТРОГЕНОВ И ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ПРОЯВЛЕНИЙ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Резюме. Проанализирована частота отдаленных метастазов (M1) и метастатического поражения лимфатических узлов (N1–N2) на момент госпитализации у 1916 больных раком молочной железы, из которых у 1309 в опухоли экспрессия рецепторов к эстрогену подтверждена иммуногистохимическим методом. У 25 больных в сыворотке крови определяли уровень некоторых ферментов обмена углеводов и нуклеозидов. Доказано, что вероятность отдаленного метастазирования достоверно выше при негативных к эстрогену опухолях у женщин с малыми размерами (T1–2) опухолевого узла или же при сохранении менструальной функции. Наоборот, метастазирование в регионарные лимфатические узлы чаще регистрируются у женщин в предменопаузальный период при экспрессии рецепторов эстрогенов. Высокие уровни сывороточных аденозиндеаминазы и лактатдегидрогеназы с одновременно низкой активностью тимидинфосфорилазы могут косвенно указывать на отсутствие экспрессии рецепторов эстрогенов.

Еще в конце XIX в. английским хирургом George Beatson было показано, что овариэктомия приводит к регрессии распространенного рака молочной железы (РМЖ) [1]. С этого времени началась плодотворная история изучения рецепторного аппарата злокачественно трансформированных клеток, его роли в особенностях клинического течения заболевания. Сегодня во многих развитых странах учет гормонального статуса больных РМЖ является обязательной диагностической процедурой [2]. И уже завтра моветоном будет считаться отсутствие в клинике технологий контроля экспрессии в опухолевых клетках гормональных рецепторов (ГР). Наряду с клиническими характеристиками течения РМЖ, знания состояния экспрессии ГР в опухоли являются не только важными факторами прогноза течения заболевания, но и помогают конструировать индивидуализированные схемы комплексной терапии, обосновывают целесообразность назначения гормонотерапии (ГТ), позволяют снизить риск развития рецидива заболевания [3–5].

Наиболее изученными и справедливо заслужившими внимания клиницистов-онкологов являются рецепторы эстрогенов (РЭ) [6–8]. Первый подтип этих рецепторов (РЭ-альфа) в клетках опухоли молочной железы детально описан еще в 1986 г. [9]. Спустя 10 лет был выявлен второй подтип рецепторов эстрогенов — РЭ-бета в тимусе, селезенке, яичниках и яичках человека [10]. Доказано, что эти подтипы рецепторов осуществляют различную трансдукцию гормональных сигналов. Если после стимуляции 17-бета-эстрадиолом РЭ-альфа активируют транскрипцию генов, то после стимуляции РЭ-бета транскрипция, напротив, подавляется [11]. Анализ научно-медицинской периодики сви-

детельствует о сохранении пристального интереса к изучению роли рецепторного статуса в прогрессии опухолевого роста [5, 12–15]. За 2009 г. электронный ресурс PubMed:MedLine (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) пополнился 1424 статьями, посвященными изучению только РЭ (search keyword: estrogen-receptor) только у больных РМЖ (search keyword: breast cancer).

С 1999 г. иммуногистохимические технологии оценки состояния экспрессии РЭ внедрены в практику Донецкого областного противоопухолевого центра. Их широкое использование — один из факторов успехов нашей клиники в лечении пациенток с РМЖ. В настоящем сообщении приведены результаты статистического анализа частоты отдаленных метастазов (M) и поражения регионарных лимфатических узлов (РЛУ) на момент первичной диагностики РМЖ в зависимости от наличия или отсутствия в опухолевых клетках РЭ.

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалом для исследования послужила электронная база данных Донецкого областного противоопухолевого центра, содержащая результаты оценки экспрессии РЭ в опухолевых клетках 1916 больных РМЖ (T1–T4, M0–M1, N0–N2). Средний возраст пациенток составил $(48,6 \pm 0,3)$ года, минимальный — 21, а максимальный — 83. У всех больных, включенных в настоящее исследование, первичный диагноз, поражение РЛУ и наличие отдаленных M были верифицированы морфологически. Критериями исключения из исследования явились наличие предшествующих злокачественных новообразований, ранее проведенное специальное лечение, симптомы острого или хронического инфекционного заболевания, наруше-

ний толерантности к химиопрепаратам, клинически яркие нарушения когнитивных способностей или деменция. Протокол исследования был одобрен Комитетом по вопросам биоэтики Донецкого национального медицинского университета им. М. Горького.

У 1212 женщин была сохранена менструальная функция, остальные 704 находились в состоянии менопаузы. По критерию Т пациенток разделили на 2 группы. Первую группу составила 1331 пациентка с максимальным размером опухоли до 5 см Т(1–2), вторую — 568 пациенток с размерами первичной опухоли от 5 до 10 см в диаметре Т(3–4). Не менее важным прогностическим фактором является состояние РЛУ. У 1104 больных (57,7 ± 1,1)% данной группы регистрировали поражение лимфатических узлов (ЛУ) 1-го и 2-го уровня (N1–2). Все больные получили комплексное лечение в соответствии со стандартами.

Гормоночувствительность опухолей определяли иммуногистохимическим методом. Материал для исследования получали при выполнении толстоигольной трепан-биопсии опухолевого узла перед началом специального лечения или интраоперационно. В работе использовали высокочувствительный стрептавидин-биотиново-иммунопероксидазный метод. Иммуногистохимические исследования выполняли в соответствии с инструкциями по применению наборов реактивов фирм «Дако» (Дания) или «Новокастра» (Великобритания). Исследуемую опухоль считали негативной по РЭ при выявлении специфического окрашивания в менее чем 10% клеток. Все другие варианты рассматривались как рецептор-положительные. В дополнительном исследовании в сыворотке крови 11 случайно отобранных больных с наличием экспрессии РЭ и 14 больных с РЭ-негативными опухолями спектрофотометрически определяли активность аденозиндезаминазы (АДА), тимидинфосфорилазы (ТФ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы.

Статистический анализ результатов проведен с использованием лицензионного пакета прикладных программ STATISTICA-6.0 (StatSoft). Цифровые данные по тексту представлены в виде средних частот (X) и их стандартных ошибок (x). Различия между частотами регистрации клинических признаков заболевания считали достоверными при $p \leq 0,05$ (двусторонний критерий).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как и следовало ожидать [16–18], вероятность выявления при первичном осмотре отдаленных М зависит от наличия в опухолевых клетках РЭ (рис. 1). На общем массиве данных среди 1309 женщин с РЭ-положительными опухолями М выявлены в (7,9 ± 0,8)%, тогда как среди 607 женщин, в опухолях которых отсутствовали РЭ, — в (11,5 ± 1,3)% случаев. Различия достоверны при $p = 0,005$. При отсутствии экспрессии РЭ статистически достоверно чаще М регистри-

ровали в группе женщин с сохраненной менструальной функцией ((9,7 ± 1,5) против (6,2 ± 0,9)% при РЭ-положительных опухолях, $p = 0,027$), при малых размерах опухоли Т(1–2) (соответственно (4,0 ± 1,0) против (1,9 ± 0,5)%, $p = 0,027$).

Отдаленные М достоверно чаще регистрировали у женщин в постменопаузальный период — в 10–16% и при больших размерах первичной опухоли — Т(3–4) — в 22–27% случаев (см. рис. 1). Общеизвестно, что такие особенности характерны для местнораспространенных опухолевых процессов. Более же частое метастазирование у пациенток в постменопаузальный период, вероятно, связано с характерной для данной возрастной категории больных поздней обращаемостью. Однако в этих группах частота М не была статистически связана с экспрессией РЭ. Среди пациенток в постменопаузальный период М выявлены в (10,6 ± 1,5)% при РЭ-положительных и в (15,6 ± 2,7)% — при РЭ-негативных опухолях ($p = 0,072$). В группе обследованных с местно-распространенным РМЖ М выявлены у (22,2 ± 2,2)% женщин с РЭ-положительными опухолями и у (27,0 ± 3,2)% — при отсутствии экспрессии РЭ ($p = 0,204$) (см. рис. 1).

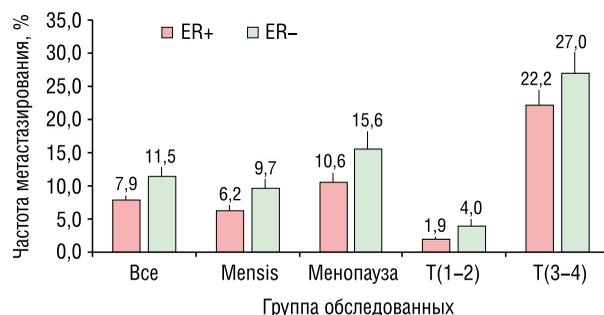


Рис. 1. Частоты регистрации отдаленных М в зависимости от экспрессии в опухоли РЭ

Сопоставление частоты поражения РЛУ у пациенток выделенных групп с наличием или отсутствием в опухолевых клетках РЭ (рис. 2) не выявило статистически достоверных различий.

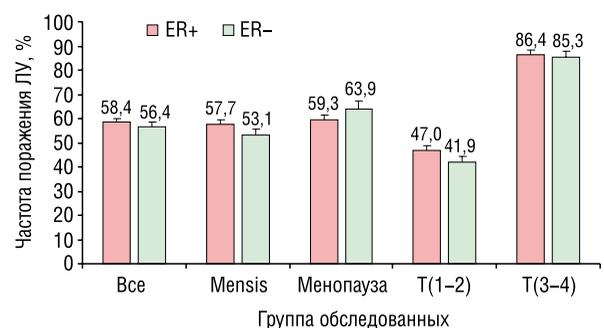


Рис. 2. Частота поражения ЛУ в зависимости от экспрессии в опухоли РЭ

В целом по всей выборке поражение ЛУ диагностировали у 764 женщин из 1309 с наличием в опухолевых клетках РЭ — (58,4 ± 1,4)% и у 340 из 603 при отсутствии РЭ — (56,4 ± 2,0)% ($p = 0,41$). Максимальные отличия при вероятности безошибочного суждения 91% отмечены в группе пациенток Т(1–2). М в РЛУ диагностировали у (47,0 ± 1,6)%

больных с наличием РЭ и лишь у $(41,9 \pm 2,5)\%$ женщин с РЭ-негативным статусом ($p = 0,087$). Достаточно высокая вероятность безошибочного суждения о различиях в частоте поражения ЛУ, связанных с состоянием экспрессии РЭ, побудило нас провести более детальный анализ этой группы пациенток.

Все обследованные с малыми размерами опухоли (Т1–2) были разделены на 2 подгруппы. В первую включили 825 больных с сохраненной менструальной функцией, средний возраст — $(43,0 \pm 0,2)$ года. В этой подгруппе экспрессию РЭ регистрировали в 547 случаях. Вторую подгруппу составили 506 женщин в менопаузальный период (средний возраст — $(58,1 \pm 0,8)$ года), из них у 382 выявлена экспрессия РЭ. В подгруппе женщин в менопаузальный период частота поражения ЛУ статистически не связана с экспрессией РЭ — $(48,2 \pm 2,6)$ и $(49,6 \pm 4,5)\%$ соответственно при РЭ-позитивных и РЭ-негативных опухолях ($p = 0,787$). Аналогичные данные описаны и в литературе при сопоставлении групп больных, различающихся состоянием ЛУ [19]. Более выраженные, но также статистически недостоверные ($p = 0,076$) отличия отмечены нами и в частоте отдаленного М: в $(2,9 \pm 0,9)\%$ случаев при РЭ-позитивных и в $(6,4 \pm 2,2)\%$ случаев при РЭ-негативных опухолях.

Иные результаты получены при анализе подгруппы пациенток с сохраненной менструальной функцией. Наличие экспрессии РЭ не оказывало влияния на частоту отдаленного М — $(1,3 \pm 0,5)$ и $(2,8 \pm 1,0)\%$ соответственно при РЭ-позитивных и РЭ-негативных опухолях ($p = 0,127$). А метастатическое поражение РЛУ статистически достоверно чаще регистрировали у пациенток с наличием РЭ (в $(45,9 \pm 2,13)\%$ по сравнению с $(38,5 \pm 2,9)\%$ при РЭ-негативных опухолях, $p = 0,043$).

Выявленная нами статистически достоверно большая предрасположенность к поражению ЛУ не согласуется с распространенными в литературе представлениями о благоприятном прогнозе течения РМЖ у больных с РЭ-позитивным статусом опухоли [2, 13, 20]. Однако, учитывая достаточный объем массива проанализированных нами данных — 825 больных, проведенную стандартизацию сравниваемых групп по размеру узла первичной опухоли, а также практически равные показатели среднего возраста пациенток сравниваемых подгрупп — $(43,7 \pm 0,3)$ и $(41,7 \pm 0,4)$ года соответственно, считаем выявленную закономерность объективной для женщин с сохраненной менструальной функцией. А, следовательно, требующей пристального внимания и осмысления онкологами-клиницистами.

На неоднозначность устоявшихся подходов к прогнозированию характера течения РМЖ, основанных на учете экспрессии РЭ, указывают и имеющиеся в литературе противоречия. Так, показано, что частота полного «морфологического и клинического ответов» на неоадьювантную химиотерапию и/или ГТ много выше именно при РЭ-негативных опухо-

лях [14, 21]. Лучшие показатели выживаемости зарегистрированы и в группе РЭ-негативных больных, характеризующихся высокой экспрессией в опухоли ТФ [22]

Выявленные особенности клинического течения РМЖ у женщин с сохраненной менструальной функцией и наличием экспрессии РЭ, а именно — большая предрасположенность к метастатическому поражению ЛУ, вероятно, не могут быть объяснены только управляющими влияниями стероидных гормонов на генетический аппарат опухолевых клеток. Известно, что регулируемая через РЭ гиперэкспрессия белка HER2/neu сочетается с повышенной активностью в опухоли мышечной изоформы ЛДГ — одного из ключевых ферментов гликолитического пути окисления глюкозы [23]. Также описана связь между экспрессией в опухоли рецепторов к стероидным гормонам и низкой активностью в ней ферментов обмена нуклеотидов — тимидилатсинтазы и дигидропиримидиндегидрогеназы [24]. Проведенный нами сопоставительный анализ уровня в сыворотке крови больных РМЖ ферментов углеводного и нуклеинового обменов показал некоторые особенности, связанные с рецепторным статусом опухоли. У пациенток с РЭ-позитивными опухолями статистически достоверно ($p = 0,036$) выше активность ТФ — $(18,5 \pm 5,7)$ нмоль/(мин · мг) по сравнению с таковой при отсутствии РЭ — $(10,6 \pm 1,4)$ нмоль/(мин · мг). Активность же ЛДГ и АДА, напротив, выше в крови пациенток с РЭ-негативными опухолями: для ЛДГ — $(3,2 \pm 0,15)$ против $(3,0 \pm 0,2)$ нмоль/(мин · мг) ($p = 0,023$), для АДА — $(13,7 \pm 2,9)$ против $(9,5 \pm 3,2)$ нмоль/(мин · мг) ($p = 0,045$). Активность сывороточной глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы не коррелирует с наличием РЭ.

ВЫВОДЫ

1. Полученные данные подтверждают имеющиеся представления о большей вероятности отдаленного метастазирования РМЖ у больных при отсутствии экспрессии РЭ.

2. Однако, по нашим данным, такая зависимость статистически значима лишь для пациенток с сохраненной менструальной функцией и при малых размерах первичного опухолевого узла Т(1–2).

3. РЭ-позитивные больные РМЖ с сохраненной менструальной функцией характеризуются более высокой частотой поражения РЛУ.

4. Выявленная разнонаправленная связь между показателями активности изученных ферментов и экспрессией РЭ позволяет допустить, что уровни сывороточных ферментов отражают особенности метаболизма опухолей. Высокие уровни сывороточных АДА и ЛДГ, сочетающиеся с низким показателем активности ТФ, могут косвенно указывать на отсутствие экспрессии РЭ, а, следовательно, являться фактором прогноза клинического течения заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Beatson GT.** On the treatment of inoperable cases of carcinoma of the mamma: suggestions for a new method of treatment with illustrative cases. *Lancet* 1896; **2**: 104–7.
2. **Hind D, Ward S, De NE, et al.** Hormonal therapies for early breast cancer: systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess* 2007; **11** (26): 1.
3. **Думанский ЮВ, Седаков ИЕ, Алиева СО.** Антиэстрогенная терапия больных раком молочной железы с использованием Фарестона. *Онкология* 2004; **6** (1): 60–2.
4. **Lenihan DJ, Esteva FJ.** Multidisciplinary strategy for managing cardiovascular risks when treating patients with early breast cancer. *Oncologist* 2008; **13** (12): 1224–34.
5. **Bai Z, Gust R.** Breast Cancer, Estrogen Receptor and Ligands. *Arch Pharm (Weinheim)* 2009; **342** (3): 133–49.
6. **Юрченко ОВ, Волкова ЕД, Русецкая НВ и др.** Иммуногистохимическое исследование экспрессии рецепторов стероидных гормонов и E-кадгерина как возможных маркеров прогноза у больных раком молочной железы. *Онкология* 2004; **6** (4): 252–6.
7. **Gianni L, Baselga J, Eiermann W, et al.** Feasibility and tolerability of sequential doxorubicin/paclitaxel followed by cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil and its effects on tumor response as preoperative therapy. *Clin Cancer Res* 2005; **11** (24 Pt 1): 8715–21.
8. **Конар РС, Русин АВ, Рішко МФ и др.** Експресія рецепторів стероїдних гормонів як фактор прогнозу у хворих на рак молочної залози. *Онкологія* 2008; **10** (1): 55–7.
9. **Green S, Walter P, Kumar V, et al.** Human oestrogen receptor cDNA: sequence, expression and homology to v-erb-A. *Nature* 1986; **320** (6058): 134–9.
10. **Mosselman S, Polman J, Dijkema R.** ER beta: identification and characterization of a novel human estrogen receptor. *FEBS Lett* 1996; **392** (1): 49–53.
11. **Paech K, Webb P, Kuiper GG, et al.** Differential ligand activation of estrogen receptors ERalpha and ERbeta at AP1 sites. *Science* 1997; **277** (5331): 1508–10.
12. **Мельник НН, Галахин КА, Литвиненко АА и др.** Прогностическое значение иммуногистохимических маркеров для выбора тактики терапии больных раком молочной железы. *Онкология* 2004; **6** (4): 259–61.
13. **Wirapati P, Sotiriou C, Kunkel S, et al.** Meta-analysis of gene expression profiles in breast cancer: toward a unified understanding of breast cancer subtyping and prognosis signatures. *Breast Cancer Res* 2008; **10** (4): R65.
14. **Rody A, Holtrich U, Pusztai L, et al.** T-cell metagene predicts a favourable prognosis in estrogen receptor negative and HER2 positive breast cancers. *Breast Cancer Res* 2009; **11** (2): R15.
15. **Kulendran M, Salhab M, Mokbel K.** Oestrogen-synthesising enzymes and breast cancer. *Anticancer Res* 2009; **29** (4): 1095–109.
16. **Gao JD, Wang J, Feng XL, et al.** Characterization of hormone receptor status in 5758 Chinese females with breast cancer. *Zhonghua Zhong. Liu Za Zhi* 2009; **31** (9): 683–6.
17. **Shatova O, Khomutov E, Zinkovych I.** Age-dependent changes of enzymes activity and estrogen receptors in breast cancer. *Укр биохим журн* 2009; **81** (4): 119.
18. **Zheng Y, Zhang J, Xu ZZ, et al.** Quantitative profiles of the mRNAs of ER-alpha and its novel variant ER-alpha36 in breast cancers and matched normal tissues. *J Zhejiang Univ Sci B* 2010; **11** (2): 144–50.
19. **Fujii T, Yanagita Y, Fujisawa T, et al.** Implication of extracapsular invasion of sentinel lymph nodes in breast cancer: prediction of nonsentinel lymph node metastasis. *World J Surg* 2010; **34** (3): 544–8.
20. **Олійниченко ГП, Захарцева ЛМ, Дроздов ВМ и др.** Клиническое значение рецепторов эстрогенов, прогестерона и онкобелка HER-2/NEU в клетках рака молочной железы. *Онкология* 2002; **4** (1): 33–6.
21. **Berruti A, Brizzi MP, Generali D, et al.** Presurgical systemic treatment of nonmetastatic breast cancer: facts and open questions. *Oncologist* 2008; **13** (11): 1137–48.
22. **Ruckhaberle E, Karn T, Engels K, et al.** Prognostic impact of thymidine phosphorylase expression in breast cancer — Comparison of microarray and immunohistochemical data. *Eur J Cancer* 2010; **46** (3): 549–57.
23. **Zhao YH, Zhou M, Liu H, et al.** Upregulation of lactate dehydrogenase A by ErbB2 through heat shock factor 1 promotes breast cancer cell glycolysis and growth. *Oncogene* 2009; **28** (42): 3689–701.
24. **Kurebayashi J, Yamamoto Y, Udagawa K, et al.** Establishment of enzyme-linked immunosorbent assays for thymidylate synthase and dihydropyrimidine dehydrogenase in cancer tissues. *Oncol Rep* 2004; **11** (5): 973–9.

ESTROGEN RECEPTORS EXPRESSION AND CLINICAL PECULIARITIES OF BREAST CANCER

I.E. Sedakov, I.I. Zinkovych, O.P. Shatova

Summary. Rate of distant metastases (M1) and positive nodes status (N1–N2) was analyzed in the moment of hospitalization of 1916 patients with breast cancer, including of 1309 with estrogen receptor-positive tumors. In 25 patients the level in the blood serum of some enzymes of exchange of carbohydrates and nucleosides was determined. It was shown that probability of distant metastases was significant higher at estrogen-negative tumors of women at the small sizes (T1–2) of tumor or at the stored menstrual function. Opposite, the metastases in regional lymphatic nodes were more frequently registered among women in a premenstrual period and with the expression of estrogen receptors. High levels of serum adenosine deaminase and lactate dehydrogenase, combining with the low serum activity of thymidine phosphorylase, can serve as indirect index of absence of estrogen receptors.

Key Words: breast cancer, metastases, estrogen receptors.

Адрес для переписки:

Седаков И.Е.

83092, Донецк, ул. Полоцкая, 2А

Донецкий областной противоопухолевый центр

E-mail: igor.sedakov@dsmu.edu.ua