

А.А. Ковалев
Д.А. Цветаева-Берест
Т.В. Грудинская
Т.А. Семенова
Т.П. Кузнецова

ГУ «Запорожская медицинская академия последипломного образования МЗ Украины», Запорожье, Украина

Ключевые слова: рак молочной железы, химиотерапия, химиорезистентность, АТФ-связанные кассетные транспортеры (ABC), Pgp, MRP, BCRP, молекулярный подтип опухоли.

ЭКСПРЕССИЯ БЕЛКОВ Pgp, MRP1, BCRP И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ХИМИОТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Цель: изучить влияние экспрессии белков Pgp (Р-гликопротеин), MRP1 и BCRP на эффективность химиотерапии (ХТ) у больных раком молочной железы (РМЖ). **Объект и методы:** проведен анализ результатов лечения 100 пациенток с РМЖ. Оценку эффективности ХТ осуществляли по динамике маркерных очагов (критерии RECIST 1.1). В биопсийном материале первичной опухоли исследовали экспрессию 3 маркеров химиорезистентности иммуногистохимическим методом. В качестве первичных антител были использованы антитела Anti-P-Glycoprotein (p170) — клон F4, Anti-MRP — клон MRPm6, Anti-BCRP — клон VXP-21. **Результаты:** выявлена определенная связь уровня (0, 1+, 2+, 3+) и локализации (мембранная, цитоплазматическая) исследованных белков со стадией заболевания и молекулярным подтипом РМЖ. Установлена также зависимость результатов ХТ от уровня и характера экспрессии протеинов BCRP, MRP и Pgp. При отсутствии мембранной экспрессии этих белков объективный ответ на ХТ отмечали у 80,0% (при цитоплазматической экспрессии 0, 1+) и у 91,3% (при цитоплазматической экспрессии 2+, 3+) больных. В группе с мембранной экспрессией хотя бы одного из ABC-транспортеров у 20 (71,5%) из 28 больных возникло прогрессирование заболевания. **Выводы:** Pgp, MRP и BCRP целесообразно анализировать в клинических протоколах в контексте персонализации терапии, наряду с характеристикой молекулярно-генетических подтипов РМЖ.

Персонализированное лечение больных раком молочной железы (РМЖ) сегодня основано на признании факта молекулярно-генетической гетерогенности опухолей, но не учитывает такие характеристики, как первичная и приобретенная химиорезистентность. Несмотря на индивидуализацию терапии, 30% больных с клинически ранним и более 50% — с метастатическим РМЖ рефрактерны к лечению. Общий ответ на терапию при метастатическом раке почти всегда транзиторный. В клинической практике этот феномен известен как множественная лекарственная резистентность (МЛР). Одним из основных механизмов МЛР является активация системы АТФ-зависимых транспортеров, увеличивающих трансмембранный эффлюкс лекарственных препаратов из клетки, что приводит к снижению их концентрации в цитоплазме и, как следствие, — к нечувствительности клетки к повреждающему воздействию цитостатиков. АТФ-связанные кассетные транспортеры (adenosine triphosphate binding cassette — ABC) представлены многочисленным суперсемейством, в которое включены 48 крупных трансмембранных протеинов, разделенных на семь семейств (от ABC-A до ABC-G). Функцией этих белков на клеточном уровне является АТФ-зависимый транспорт широкого спектра ксенобиотиков (включая цитостатики), а также липидов и метаболитических продуктов внутриклеточных мембран. В дополнение к транспорту ксеноби-

отиков ABC-белки ответственны за внутриклеточный транспорт пептидов и играют роль в презентации антигенов класса I главного комплекса гистосовместимости [1, 2].

Наилучше изучен транспортер ABCB1 (также известный как MDR1 или Р-гликопротеин — Pgp), на котором были сосредоточены большинство клинических исследований, поскольку именно он часто экспрессируется в химиорезистентных опухолях толстой кишки, почки, коры надпочечников и в гепатоцеллюлярной карциноме [3]. Однако хотя с момента открытия Pgp прошло около 30 лет, клинические испытания по определению роли этого белка до сих пор не окончены. Не все клетки резистентных злокачественных опухолей в одинаковой степени экспрессируют Pgp. Для формирования первичной и приобретенной резистентности опухоль использует несколько различных типов ABC-транспортеров. В частности, ключевое значение в развитии резистентности клеток РМЖ имеет не только Pgp, но также MRP и BCRP.

Является актуальным изучение роли различных представителей семейства ABC-транспортеров — ABCB1 (Pgp или MDR1), ABCC1 (MRP), ABCG2 (BCRP) — в развитии первичной и приобретенной химиорезистентности на этапах лечения больных РМЖ разного молекулярного профиля (люминальный А и В, Her2/неу-позитивный, тройной негативный, гибридный (люминальный/Her2/неу-

позитивный) подтипы) с различным прогнозом течения заболевания [4, 5].

Целью исследования было изучить влияние экспрессии белков Pgp, MRP1 и BCRP на эффективность проведения химиотерапии (ХТ) у больных РМЖ.

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучена экспрессия ABC-транспортёров в ткани опухоли и проведен ретроспективный анализ результатов лечения 100 пациенток с инвазивным РМЖ разной степени дифференцировки (G), получивших лечение в Запорожском областном клиническом онкологическом диспансере в период с 2011 по 2013 г. Все пациентки дали информированное согласие на включение в исследование и использование трепан-биоптатов опухоли в исследовательских целях. Возраст больных — $55,0 \pm 12,5$ года; 51 (51%) пациентка — в пременопаузе, 49 (49%) — в менопаузе. Стадирование заболевания осуществляли по классификации TNM-6. Все компоненты комплексного лечения (оперативное вмешательство, цитостатическая химиотерапия (ХТ), лучевая терапия, гормонотерапия, терапия бисфосфонатами) применяли в соответствии с национальными стандартами, с учетом рецепторного статуса опухоли. Неoadъювантная ХТ проведена у 41 (41%) больной РМЖ в стадии II, III. У 59 (59%) пациенток применена паллиативная ХТ (в связи с неоперабельностью, обусловленной разными причинами, или наличием гематогенных висцеральных и костных метастазов). У 85 (85%) больных использовали антрациклин-содержащие схемы ХТ (CAF/CEF), у 11 (11%) — режим CMF, у 4 (4%) — таксансодержащие схемы. У всех пациенток проанализирована эффективность лечения 1-й линии.

Оценку эффективности ХТ в процессе неoadъювантного и паллиативного лечения осуществляли по динамике маркерных очагов (критерии RECIST 1.1: complete response — CR; partial response — PR; stable disease — SD; progressive disease — PD).

Трепан-биоптаты молочной железы размера $0,2 \times 1,5$ см фиксировали в нейтральном забуференном формалине (рН 7,4), материал проводили через батарею спиртов восходящей концентрации и хлороформ, заключали в парапласт. Для морфологического исследования и оценки степени дифференцировки (Grade) клеток РМЖ срезы толщиной $0,3-0,5$ мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Рецепторный статус опухоли определяли согласно существующим стандартам, используя МкАТ к рецепторам эстрогенов (альфа) (клон SP1, Dako), прогестерона (клон Pgp 636, Dako), HER2/neu (клон A0485, Dako), Ki-67 (клон MIB-1, Dako). В биопсийном материале исследовали также 3 маркера химиорезистентности, используя в качестве первичных МкАТ Anti-P-Glycoprotein

(p170) (клон F4, DBS), Anti-MRP (клон MRPm6, Millipore), Anti-BCRP (клон BXP-21, Millipore). Применяли систему визуализации EnVisionFLEX+ со стандартным протоколом окраски. Визуальную оценку результатов осуществляли с помощью микроскопа ImagerA1m (Zeiss) при увеличении $\times 100$, $\times 200$, $\times 400$. Поскольку унифицированные шкалы оценки экспрессии маркеров химиорезистентности отсутствуют, нами были разработаны собственные шкалы качественного и количественного определения уровня каждого маркера. Для Anti-MRP и Anti-BCRP позитивным контролем была ткань печени человека, для Anti-P-Glycoprotein (p170) — ткань надпочечников. В каждом случае подсчитывали 1000 опухолевых клеток. Учитывали интенсивность окрашивания (0, 1+, 2+, 3+), процент окрашенных клеток (порог составлял 10%) и однородность окрашивания (однородным считали гомогенное окрашивание цитоплазмы или мембраны 80% изучаемых клеток).

Примеры характерного окрашивания клеток РМЖ на наличие транспортных протеинов ABC представлены на рис. 1–3.

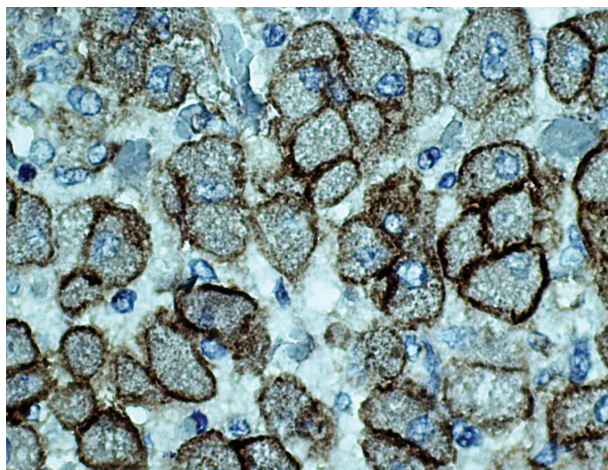


Рис. 1. Иммуногистохимическая экспрессия Pgp (p170) в клетках инвазивного опухолевого компонента: полное интенсивное (3+) окрашивание мембран. $\times 400$

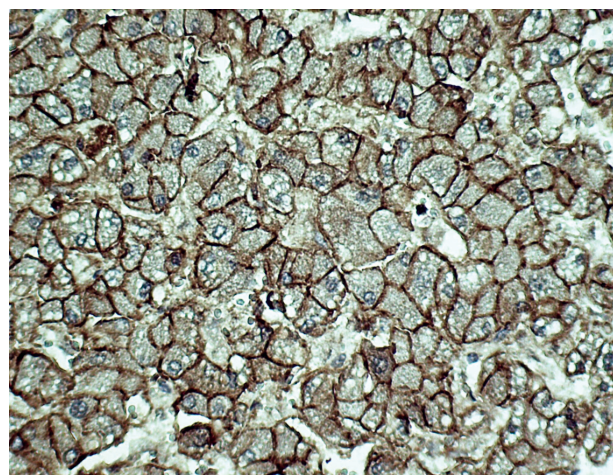


Рис. 2. Иммуногистохимическая экспрессия MRP1: полное интенсивное (3+) окрашивание мембран. $\times 200$

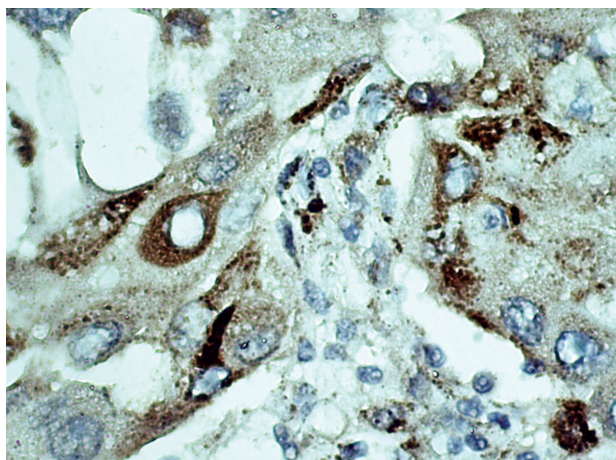


Рис. 3. Иммуногистохимическая экспрессия VCRP: гранулярное окрашивание в цитоплазме и частичное окрашивание мембран. $\times 400$

Статистическую обработку результатов проводили, используя *t*-критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Распределение больных по стадиям заболевания и согласно характеристикам опухоли (категория G, молекулярный подтип) представлено в табл. 1. Как видно, при распределении в зависимости от стадии и молекулярного подтипа РМЖ не выявлено статистически существенных различий в численности выделенных подгрупп. При оценке количества биоптатов опухоли согласно категории G отмечена значительно меньшая ($p < 0,01$) частота G1 по сравнению с G2 и G3, а также преобладание G2 над G3.

Таблица 1

Распределение больных РМЖ по клиническим характеристикам и молекулярному подтипу опухоли

Характеристика	Больные	
	п	%
Стадия РМЖ		
II	33	33
III	45	45
IV	22	22
Категория G		
1	4	4*
2	57	57**
3	39	39
Молекулярный подтип опухоли		
Люминальный А, В (Her2/neu 0,1+)	25	25
Гибридный (люминальный В, Her2/neu 2+, 3+)	22	22
Her2-позитивный (Her2/neu 2+, 3+)	27	27
Трижды негативный	26	26

* $p < 0,01$ по сравнению с G2 и G3; ** $p < 0,05$ по сравнению с G3.

Исследуя экспрессию каждого из ABC-транспортеров, наблюдали как мембранную, так и цитоплазматическую локализацию белков VCRP, MRP, Pgp (табл. 2). Полученные данные указывают на значительную гетерогенность экспрессии указанных белков в клетках инвазивного РМЖ. Как видно из табл. 2, мембранная экспрессия VCRP и Pgp проявлялась существенно реже, чем цитоплазматическая (независимо от выраженности последней). Частота мембранной экспрессии MRP была достоверно ниже лишь по сравнению с частотой фенотипа

Mem–Cit 0,1+. По уровню экспрессии в цитоплазме (частота Mem–Cit 2+,3+ по сравнению с Mem–Cit 0,1+) статистически существенные отличия выявлены для белков Pgp и MRP.

Таблица 2

Распределение биоптатов по характеру экспрессии исследованных ABC-белков

Характер экспрессии	VCRP		MRP		Pgp	
	п	%	п	%	п	%
Mem 2+, 3+ (мембранная экспрессия)	15	15*	17	17**	4	4*
Mem–Cit 2+, 3+ (цитоплазматическая экспрессия 2+, 3+)	45	45	26	26**	18	18**
Mem–Cit 0,1+ (цитоплазматическая экспрессия 0,1+)	40	40	57	57	78	78

* $p < 0,05$ по сравнению с Mem–Cit 2+, 3+ и Mem–Cit 0,1+;

** $p < 0,05$ по сравнению с Mem–Cit 0,1+.

В зависимости от характера экспрессии изучаемых белков больных разделили на 3 группы (табл. 3). В 1-ю группу ($n = 28$) включены пациентки, в РМЖ которых отмечена мембранная экспрессия (Mem 2+, 3+) хотя бы одного из исследуемых белков (любого). Эта группа обозначена как ABC-Mem+Cit+. Во 2-й группе ($n = 46$) выявлено высокое (2+, 3+) окрашивание цитоплазмы опухолевых клеток (при определении хотя бы одного (любого) из транспортеров), но отсутствовало окрашивание мембраны — группа ABC-Mem–Cit+. В биоптатах 3-й группы ($n = 26$) отсутствовало мембранное окрашивание, отсутствовало или было очень низким (0,1+) окрашивание цитоплазмы на все три транспортера (VCRP, MRP и Pgp). Пациентов этой группы признали ABC-негативными. Как свидетельствуют данные, наиболее многочисленной была 2-я группа.

Таблица 3

Распределение пациенток по характеру экспрессии ABC-транспортеров

Группа	Больные	
	п	%
1-я (ABC-Mem+Cit+)	28	28
2-я (ABC-Mem–Cit+)	46	46*
3-я (ABC-Mem–Cit 0,1+; ABC-негативная)	26	26

* $p < 0,05$ по сравнению с 1-й и 3-й группами.

Проведен анализ распределения пациенток с различным ABC-фенотипом РМЖ в зависимости от стадии заболевания, степени дифференцировки (критерий G) и молекулярного подтипа РМЖ (табл. 4).

Как видно из табл. 4, не отмечено существенных отличий в частоте выявления фенотипов Mem+Cit+ и Mem–Cit+ в зависимости от стадии заболевания. ABC-негативный фенотип (Mem–Cit 0,1+) чаще регистрировали при стадиях II и III, значительно реже — при стадии IV ($p < 0,05$ по сравнению со стадией III). Сопоставление частоты каждого из фенотипов среди РМЖ одной стадии выявило аналогичную закономерность — меньшую частоту ABC-негативных опухолей именно при IV стадии заболевания ($p < 0,05$ по сравнению с частотой при этой стадии фенотипа Mem–Cit+). Среди РМЖ

Зависимость экспрессии ABC-транспортеров от клинических характеристик и молекулярного подтипа РМЖ

Характеристика	Экспрессия ABC-транспортеров					
	Mem+ Cit+		Mem- Cit+		ABC-негативные	
	n = 28	%	n = 46	%	n = 26	%
Стадия РМЖ						
II (n = 33; 100,0%)	11	39,3/33,3 ¹	13	28,3/39,3	9	34,6/27,3
III (n = 45; 100,0%)	11	39,3/24,4	21	45,6/46,7	13	50,0/28,8
IV (n = 22; 100,0%)	6	21,4/27,2	12	26,1/54,5	4	15,4 ² /18,2 ³
Категория G						
1 (n = 4; 100,0%)	0	0,0	2	4,3/50,0	2	7,6/50,0
2 (n = 57; 100,0%)	15	53,5/26,3	28	60,8/49,2	14	53,8/24,6
3 (n = 39; 100,0%)	13	46,5/33,3	16	34,7/41,0	10	38,4/25,6
Молекулярный подтип опухоли						
Люминальный A, B (Her2/neu 0,1+) (n = 25; 100,0%)	3	10,7/12,0 ⁴	11	23,9/44,0	11	42,3/44,0
Гибридный (люминальный B/Her2/neu 2+, 3+) (n = 22; 100,0%)	2	7,1/9,0	16	34,7/72,7 ⁸	4	15,3/18,2
Her2/neu-позитивный (Her2/neu 2+, 3+) (n = 27; 100,0%)	14	50,0 ⁵ /51,8 ⁶	9	19,5/33,3	4	15,3/14,8
Трижды негативный (n = 26; 100,0%)	9	32,1 ⁷ /34,6	10	21,7/38,5	7	26,9/26,9

¹В числителе – частота данного (одинакового) ABC фенотипа в зависимости от стадии заболевания, критерия G или молекулярного подтипа; в знаменателе – частота каждого из ABC фенотипов у пациенток с одинаковыми стадиями заболевания, критерием G, молекулярным подтипом опухоли; ²p < 0,05 по сравнению со стадией III; ³p < 0,05 по сравнению с фенотипом Mem- Cit+ при стадии IV; ⁴p < 0,05 по сравнению с Mem- Cit+ и ABC-негативными фенотипами при люминальном A, B РМЖ; ⁵p < 0,05 по сравнению с люминальным A, B и гибридным подтипами; ⁶p < 0,05 по сравнению с ABC-негативным фенотипом при Her2/neu-позитивном РМЖ; ⁷0,05 < p < 0,1 по сравнению с люминальным A, B и гибридным подтипами; ⁸p < 0,05 по сравнению с Mem+ Cit+ и ABC-негативными фенотипами при гибридном (люминальном B/Her2/neu 2+, 3+) РМЖ.

со степенью дифференцировки G1 опухоли с фенотипом Mem+ Cit+ не выявлены; частота опухолей Mem- Cit+ и ABC-негативных была одинаковой. Сопоставление характеристик опухолей категорий G2 и G3 не продемонстрировало достоверных отличий в частоте предложенных нами вариантов экспрессии ABC-транспортеров. Для однозначного заключения об отсутствии мембранной экспрессии белков BCRP, MRP и Pgp в опухолях с прогностически благоприятной характеристикой G1 необходимы дополнительные исследования для формирования репрезентативной выборки по этой характеристике.

Анализ распределения ABC-фенотипов в зависимости от молекулярного подтипа опухоли показал, что мембранную экспрессию хотя бы одного из белков-транспортеров достоверно чаще выявляли при Her2/neu-позитивном (p < 0,05) или трижды негативном (0,05 < p < 0,1) РМЖ по сравнению с люминальным A, B и гибридным подтипами. Следует также отметить, что среди Her2/neu-позитивных опухолей фенотип Mem+ Cit+ отмечен с достоверно большей частотой (p < 0,05), чем ABC-негативный фенотип. Опухоли люминального A, B подтипа характеризовались одинаковой частотой выявления фенотипов Mem- Cit+ и Mem- Cit 0,1+ (ABC-негативные), мембранную экспрессию ABC-транспортеров (Mem+ Cit+) отмечали в достоверно меньшем (p < 0,05) количестве случаев. Среди РМЖ гибридного (люминальный B/Her2/neu 2+, 3+) подтипа наиболее частыми были опухоли с выраженной цитоплазматической экспрессией хотя бы одного транспортера – фенотип Mem- Cit+ (p < 0,05 по сравнению с Mem+ Cit+ и ABC-негативными). Заслуживает внимания преобладание опухолей с мембранной экспрессией хотя бы одного из ABC-транспортеров среди РМЖ Her2/neu-позитивного или трижды негативного подтипов, которые являются прогностически менее благоприятными.

Представляется целесообразным проведение дальнейших исследований с целью установления корреляционной зависимости между экспрессией ABC-транспортеров, молекулярным подтипом РМЖ и прогнозом эффективности лечения и течения заболевания.

Ретроспективный анализ выявил зависимость результатов ХТ от уровня и характера экспрессии протеинов BCRP, MRP и Pgp (табл. 5). В 1-й группе (мембранная экспрессия BCRP, MRP и Pgp) у 20 (71,5%) из 28 больных во время проведения ХТ наступило прогрессирование заболевания. Злокачественный фенотип этой опухоли соответствовал состоянию МЛР. Особо следует отметить, что 15 пациенток этой группы получали неоадьювантную ХТ, которая оказалась неэффективной и, следовательно, нецелесообразной у 12 (80,0%) лиц. Во 2-й группе (цитоплазматическое окрашивание на уровне 2+, 3+ без мембранного окрашивания) объективный ответ отмечали у 91,3% больных; неэффективность терапии и прогрессирование опухолевого процесса отмечены лишь у 4 (8,7%) из 46 пациенток. В 3-й группе (ABC-негативный фенотип) объективный ответ наблюдали у 80%, прогрессирование болезни – у 20% лиц.

Таблица 5

Результаты ХТ в зависимости от характера экспрессии ABC-транспортеров

Группа пациенток	Количество пациенток		Объективный ответ на ХТ		Прогрессирование заболевания	
	n	%	n	%	n	%
1-я (ABC-Mem+ Cit+)	28	100,0	8	28,5	20	71,5
2-я (ABC-Mem- Cit+)	46	100,0	42	91,3	4	8,7
3-я (ABC-Mem- Cit 0,1+, ABC-негативная)	26	100,0	21	80,0	5	20,0

Достоверными являются отличия по уровню объективного ответа между группой мембранного окрашивания (1-я группа) и каждой из групп (2-я

и 3-я группы) цитоплазматического окрашивания ($p < 0,01$). Различие между группами цитоплазматического окрашивания в ответе на лечение не достоверно ($p > 0,05$). Поэтому являлось логичным объединение групп с цитоплазматической экспрессией ABC-транспортеров в одну группу, отличную по ответу на ХТ от группы с мембранным окрашиванием (табл. 6, рис. 4).

Таблица 6
Результаты лечения в зависимости от наличия мембранной экспрессии ABC-транспортеров

Группы пациенток в зависимости от результата лечения	Цитоплазматическая экспрессия либо отсутствие экспрессии ABC-транспортеров	Мембранная экспрессия хотя бы одного из ABC-транспортеров	Достоверность различия в эффективности ХТ
Всего пациенток (n = 100)	72	28	p
Объективный ответ (эффект от ХТ)	63 87,5%	8 28,5%	< 0,01
Прогрессирование заболевания	9 12,5%	20 71,5%	< 0,01

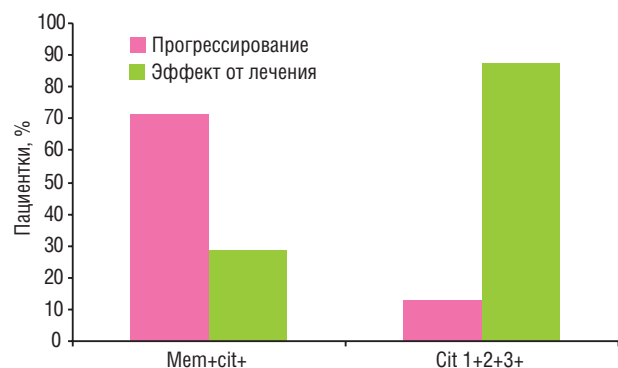


Рис. 4. Результаты ХТ в зависимости от уровня экспрессии и локализации в клетке белков BCRP, MRP, Pgp

Причиной неэффективности цитостатической терапии при раке могут быть нарушения фармакокинетики и/или фармакодинамики лекарственного препарата. К первым относят нарушение всасывания, распределения в тканях, метаболизма и элиминации препарата; ко вторым — многочисленные нарушения механизмов повреждения клетки, обусловленные генетическими и эпигенетическими изменениями, которыми являются активация систем детоксикации, репарации ДНК, а также сбои в сигнальных путях апоптоза. В любой популяции злокачественных клеток, подвергающихся воздействию ХТ, всегда реализуется более чем один механизм лекарственной резистентности.

Повышение активности белков семейства ABC-транспортеров, приводящее к эффлюксу цитостатика из клетки, является основой классического фенотипа МЛР. Остальные механизмы принято считать атипичными.

Как упоминалось, в резистентности клеток РМЖ ведущую роль играют белки-транспортеры Pgp, MRP, BCRP. Помимо клеток РМЖ, экспрессию MRP и BCRP отмечают при лейкозе и многих солид-

ных опухолях желудочно-кишечного тракта, матки, легкого, а также меланоме [6, 7]. Высокая экспрессия трансмембранных белков ABC-суперсемейства выявлена в стволовых клетках рака [8].

Отмечена связь между экспрессией BCRP, ответом опухоли на ХТ и выживаемостью без прогрессирования [9]. Аналогичные данные получены в отношении безрецидивной выживаемости пациентов с экспрессией MRP1 [10–12].

Экспрессия Pgp, MRP и BCRP влияет на эффлюкс и фармакодинамику основных цитостатиков, применяющихся в клинической онкологии: митоксантина, топотекана, метотрексата, доксорубина, даунорубина, актиномицина D, винбластина, винкристина, паклитаксела.

Прогнозирование ответа опухоли на терапию цитостатиками особенно важно при проведении неоадьювантного лечения. Продемонстрировано, что после трех циклов неоадьювантной ХТ по схеме CAF (циклофосфамид 600 мг/м², доксорубин 50 мг/м², флуороурацил 600 мг/м² каждые 3 нед) у 72,5% пациенток при изначальном отсутствии экспрессии впоследствии отмечено повышение уровня Pgp, что коррелировало с развитием приобретенной резистентности [13].

С начала 80-х годов XX столетия предпринимались неоднократные попытки ингибировать Pgp с целью преодоления МЛР, однако до сих пор нет окончательного ответа, может ли ингибирование белков-транспортеров эффективно преодолевать лекарственную резистентность *in vivo*.

Анализ свидетельствует, что фундаментальная роль ABC-транспортеров при раке значительно более сложна, чем осуществление эффлюкса ксенобиотика из клетки. По данным некоторых авторов, экспрессия белков этого суперсемейства (Pgp, MRP и BCRP) коррелирует с более агрессивным фенотипом опухоли и прогрессированием заболевания [1, 2], что согласуется с результатами наших исследований, представленными в этой статье.

ВЫВОДЫ

1. Методы выявления Pgp, MRP и BCRP в клетках РМЖ требуют стандартизации количественного выражения.

2. Эффективность ХТ у пациенток с РМЖ зависела от уровня и характера экспрессии ABC-транспортеров: при наличии только цитоплазматической локализации или полном отсутствии их экспрессии отмечали объективный ответ на ХТ, при мембранной локализации экспрессии хотя бы одного из исследованных белков — отсутствие эффекта лечения и прогрессирование заболевания.

3. Белки суперсемейства ABC-транспортеров целесообразно анализировать в клинических протоколах, наряду с характеристикой молекулярно-генетического подтипа опухоли, в контексте персонализации терапии на этапах неоадьювантного и паллиативного лечения больных РМЖ.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ
ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gottesman MM, Fojo T, Bates SE. Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters. *Nature Rev Cancer* 2002; **2**: 48–58.
2. Teodori E, Dei S, Martelli C, *et al.* The functions and structure of ABC transporters: implications for the design of new inhibitors of Pgp and MRP1 to control multidrug resistance (MDR). *Curr Drug Targets* 2006; **7**: 893–909.
3. Borst P, Evers R, Kool M, *et al.* A family of drug transporters: multidrug resistance associated proteins. *J Natl Cancer Inst* 2000; **92**: 1295–302.
4. Sotiriou C, Neo SY, McShane LM, *et al.* Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population based study. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; **100**: 10393–8.
5. Dabbs DJ. Diagnostic immunohistochemistry: theranostic and genomic applications, 3rd ed. Philadelphia: Saunders (Elsevier Science), 2010. 941 p.
6. Diestra JE, Scheffer GL, Catala I, *et al.* Frequent expression of the multi-drug resistance-associated protein BCRP/MXR/ABCP/ABCG2 in human tumours detected by the BXP-21 monoclonal antibody in paraffin-embedded material. *J Pathol* 2002; **198** (2): 213–9.
7. Robey RW, Polgar O, Deeken J, *et al.* ABCG2: determining its relevance in clinical drug resistance. *Cancer Metastasis Rev* 2007; **26** (1): 39–57.
8. Maliepaard M, Scheffer GL, Faneyte IF, *et al.* Subcellular localization and distribution of the breast cancer resistance protein transporter in normal human tissues. *Cancer Res* 2001; **61** (8): 3458–64.
9. Kim YH, Ishii G, Goto K, *et al.* Expression of breast cancer resistance protein is associated with a poor clinical outcome in patients with small-cell lung cancer. *Lung Cancer* 2008; **65** (1): 105–11.
10. Dexter DW, Reddy RK, Geles KG, *et al.* Quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction measured expression of MDR1 and MRP in primary breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 1998; **4**: 1533–42.
11. Filipits M, Suchomel RW, Dekan G, *et al.* MRP and MDR1 gene expression in primary breast carcinomas. *Clin Cancer Res* 1996; **2**: 1231–7.
12. Nooter K, Brutel DLR, Look MP, *et al.* The prognostic significance of expression of the multidrug resistance-associated protein (MRP) in primary breast cancer. *Br J Cancer* 1997; **76**: 486–93.
13. Kovalev AA, Tsvetaeva DA, Grudinskaja TV. Role of ABC-cassette transporters (MDR1, MRP1, BCRP) in the development of primary and acquired multiple drug resistance in patients with early and metastatic breast cancer. *Exp Oncol* 2013; **35** (4): 287–90.

EXPRESSION OF PROTEINS Pgp,
MRP1 AND BCRP AND EFFECTIVENESS
OF CHEMOTHERAPY IN PATIENTS
WITH BREAST CANCER

A.A. Kovalev, D.A. Tsvetaeva-Berest,
T.V. Grudinskaja, T.A. Semenova, T.P. Kuznetsova

Summary. Objective: to study the influence of protein expression of Pgp, MRP1 and BCRP on the effectiveness of chemotherapy (CT) in patients with breast cancer (BC). **Subject and methods:** the analysis of results of treatment of 100 patients with BC. Evaluation of the effectiveness of CT was carried out on the dynamics of marker lesions (criteria RECIST 1.1). In biopsy material of the primary tumor the expression of 3 markers of chemoresistance was investigated using immunohistochemical method. As primary antibodies were used antibodies Anti-P-Glycoprotein (p170) clone F4, Anti-MRP — clone MRPM6, Anti-BCRP clone BXP-21. **Results:** certain connection of level (0, 1+, 2+, 3+) and localization (membrane, cytoplasmic) studied proteins with stage of disease and molecular subtype of BC was identified. The dependence of CT results from the level and nature of the expression of proteins BCRP, MRP and Pgp was revealed. In the absence of membrane expression of these proteins objective response to CT was observed at 80.0% (cytoplasmic expression 0, 1+) and 91.3% of (cytoplasmic expression 2+, 3+) patients. In the group with the membrane expression of at least one of the ABC transporters in 20 (71.5%) of 28 patients had disease progression. **Conclusions:** Pgp, MRP and BCRP should be analyzed in clinical protocols in the context of personalization of therapy, along with the characterization of the molecular subtypes of BC.

Key Words: breast cancer, chemotherapy, chemoresistance, ATP-binding cassette transporters (ABC), Pgp, MRP, BCRP, molecular subtype of the tumor.

Адрес для переписки:

Цветаева-Берест Д.А.
70441, Запорожская обл, Запорожский р-н,
с. Бельное, пер. Учительский, 16
E-mail: tsvetaeva-berest.darya@yandex.ua

Получено: 17.10.2014