

О.В. Шуліга-Недайхлебова  
 Н.Ю. Лук'янова,  
 К.О. Галахін  
 І.І. Смолянка  
 Д.О. Микитенко  
 В.Ф. Чехун

Інститут онкології  
 АМН України

Інститут експериментальної  
 патології, онкології  
 і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького  
 НАН України, Київ, Україна

**Ключові слова:** саркома  
 молочної залози, Р-глікопротеїн,  
 множинна медикаментозна  
 стійкість, прогноз.

## САРКОМИ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ — ПРОГНОЗ ХВОРОБИ В АСПЕКТІ МНОЖИННОЇ МЕДИКАМЕНТОЗНОЇ СТІЙКОСТІ

**Резюме:** Проведено дослідження експресії Р-глікопротеїну (Р-gp) у зразках саркоми молочної залози (СМЗ) та оцінено взаємозв'язок із клінічними характеристиками та ефективністю лікування. Висока експресія Р-gp у тканині пухлини СМЗ пов'язана із поганим прогнозом і виживаністю, її розцінюють як маркер більш злоякісного фенотипу. Ці дані мають важливе значення для лікування хворих та потребують більш масштабних перспективних досліджень.

### ВСТУП

Саркоми молочної залози (СМЗ) — це досить рідкісна та, як наслідок, недостатньо вивчена онкопатологія, що становить у середньому 0,5–2% серед усіх злоякісних захворювань молочної залози та менше 5% — усіх м'якотканинних сарком. 5-річна виживаність коливається у межах 30–60% [1]. Малочисельні публікації, що містять опис поодиноких випадків, не мають узагальнюючого характеру репрезентативних досліджень. Це свідчить, що недостатність клінічного досвіду, певно, є однією з основних причин незадовільних результатів лікування хворих на СМЗ. Не розроблені єдині, задокументовані стандартизовані підходи щодо проведення терапії при СМЗ, а результати проведених досліджень досить неоднозначні та суперечливі. Потрібно зауважити, що клініки, які не спеціалізуються на вузькому (онкологічному) профілю медичної допомоги, нерідко використовують стандарти лікування, аналогічні таким при карциномах молочної залози, на відміну від спеціалізованих диспансерів і лікарень, у яких віддають перевагу стратегіям ведення цих пацієнтів згідно з клініко-практичними рекомендаціями щодо терапії хворих на саркоми м'яких тканин (СМТ) [2]. Деякі автори переконані у безрезультативності будь-яких додаткових методів лікування хворих на СМЗ, оскільки останні не впливають на кінцевий результат лікування, та вважають хірургічний метод єдиним безальтернативним варіантом. Застосування цитостатичного лікування має епізодичний характер, що не дозволяє систематизувати цей досвід. При ретроспективному аналізі медикаментозного лікування хворих на СМЗ встановлено, що серед великої кількості хіміопрепаратів, що найчастіше застосовують, перевагу надають комбінаціям на основі іфосфаміду, етопозиду, віналкалоїдів, таксанів, антрациклінових

антибіотиків, платиновмісних препаратів [3], що відповідає стратегії ведення цих пацієнтів згідно з клініко-практичними рекомендаціями для пацієнтів з СМТ [4].

Головним аргументом супротивників медикаментозного лікування є те, що неепітеліальні пухлини малочутливі до цитостатичної терапії. Проте на сьогодні вже встановлено ряд геномних порушень, що детермінують розвиток, метастатичний потенціал пухлини та рівень її чутливості до протипухлинної терапії. Останній пов'язаний зокрема з експресією ряду білків медикаментозної резистентності, що є найпоширенішою проблемою при лікуванні захворювань онкологічного профілю та лімітує його ефективність. Р-глікопротеїн (Р-gp) — один із найактивніших транспортних білків, який кодується геном множинної медикаментозної стійкості (*multidrug resistance gene* — *MDR-1*) у злоякісних новоутвореннях та сприяє виведенню токсичних продуктів з клітини, що як наслідок зумовлює низьку чутливість пухлини до таких цитостатиків, як антрациклінові антибіотики, вінкакалоїди, таксани, мітоксантрон, інгібітори топоізомераз [5, 6]. Призначення медикаментозного лікування з урахуванням рівня експресії Р-gp дозволяє розробити більш обґрунтовані підходи щодо індивідуалізації протипухлинної хіміотерапії (ХТ). Тому поряд з використанням традиційних прогностичних факторів (розмір пухлини, її гістологічний варіант, стадія хвороби, радикалізм хірургічних втручань) потрібен пошук нових, що мають безпосередньо впливати на тактику лікування. У дослідженні [7] проаналізували експресію MDR-1 (Р-gp), Ki-67 та зіставили її з клінічним перебігом у хворих на СМТ. У результаті імуногістохімічного дослідження (ІГХД) 65 зразків СМТ експресію Р-gp виявлено у 48% випадків, показники 5-річної та загальної виживаності хворих становили 54 та 32% відповідно; високодиференційовані пухли-

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

ни не експресували P-гр. Рівень останнього зворотньо корелював з тривалістю життя. При багаточетровому аналізі American Joint Committee on Cancer (AJCC) прогностично значимими факторами 5-річної та загальної виживаності визначено Ki-67 та P-гр. Дослідники дійшли висновку, що експресія P-гр, Ki-67 та зміна плідності (не диплоїдність) пухлинних клітин — це незалежні прогностичні індикатори, що корелюють із агресивним перебігом хвороби у хворих на СМТ. Результати досліджень [8] виявили 58% зразків з позитивною експресією P-гр у СМТ. Аналіз клінічних даних встановив, що за відсутності експресії P-гр медіана виживаності пацієнтів становила 544 дні проти 431 за наявності P-гр, а безрецидивна виживаність — 508 днів проти 355. Досліджували фенотип MDR у високодиференційованих СМТ (29 до та після неoad'ювантної ХТ) і проводили кореляційний аналіз між експресією P-гр та чутливістю до ХТ. Отримано 34% MDR<sup>+</sup> та 66% MDR<sup>-</sup> зразків. У жодному із MDR<sup>+</sup> зразків не відзначено позитивної відповіді на проведене лікування порівняно з MDR<sup>-</sup> зразками. Таким чином, експресія MDR фенотипу виявлена приблизно у 1/3 пацієнтів; зареєстровано достовірну кореляцію між експресією MDR та низькою ефективністю ХТ.

Мета дослідження — вивчення взаємозв'язку між експресією P-гр у зразках СМЗ із клінічними характеристиками пацієнток, прогнозом хвороби та ефективністю лікування.

### ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

В основі даного дослідження лежить ретроспективний аналіз клінічного спостереження 54 хворих на СМЗ, які отримували лікування за період 1983–2003 рр. У дослідження залучено матеріал, відібраний із 4 областей України (Київська, Тернопільська, Житомирська, Чернігівська). Згідно з планом дослідження проведено підбір ретроспективного матеріалу (парафінових блоків видалених пухлин). Морфологічне дослідження пухлин проводили загальноприйнятим методом (зabarвлення препаратів гематоксилін-еозин, світлооптична мікроскопія). ІГХД експресії P-гр проводили з використанням комерційних моноклональних антитіл за стандартною методикою. Проаналізовані історії хвороб, амбулаторні картки, матеріали Канцер-реєстру. Математичну обробку даних проводили, використовуючи *t*-критерій, критерій Фішера, тест Крускаль — Валіс, лог-ранк тест, метод Кокса.

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Середній вік пацієнток, у зразках СМЗ яких визначено рівень експресії P-гр, становив  $57,3 \pm 2,1$  роки. 75% (40) хворих перебували у віковому діапазоні 43–77 років, мінімальний вік — 19, максимальний — 83 роки. Клінічна характеристика пацієнтів наведена у табл. 1.

Таблиця 1

Клінічна характеристика групи хворих на СМЗ, у яких досліджували експресію P-гр

pTNM, n (%)	Гістологічний варіант, n (%)	G, n (%)
T1N0M0 13 (24,0)	Фібросаркома 19 (35,2)	1ст 2 (7,7)
T1N1M0 7 (13,0)	Ліпосаркома 6 (11,1)	2ст 8 (30,8)
T2N0M0 20 (37,0)	Ангіолейоміосаркома 6 (11,1)	3ст 13 (50)
T2N1M0 8 (14,8)	Ангіосаркома 19 (35,2)	4ст 3 (11,5)
T2N0M1 2 (3,7)	Карциносаркома 1 (1,85)	Всього: 26 (100,0)
TXN0M0 4 (7,5)	Фіброліпосаркома 2 (3,7)	
Всього: 54 (100,0)	Некласифікована саркома 1 (1,85)	
	Всього: 54 (100,0)	

Після імуногістохімічної візуалізації експресії P-гр відзначено, що остання не є однорідною (від 0 до 70% цитоплазми пухлинних клітин). Хворих розділили на 2 групи: 1-ша — пацієнти з рівнем експресії P-гр нижчим або рівним 5% (P-гр<sup>-</sup>); 2-га — хворі з рівнем експресії вище 5% (P-гр<sup>+</sup>) (табл. 2.).

Таблиця 2

Розподіл хворих на СМЗ за експресією P-гр

Характеристика СМЗ	Кількість хворих, n %	Рівень експресії P-гр, %* (20 полів зору, x400)	p
P-гр <sup>+</sup>	24 (45,5)	$28,8 \pm 3,4$ (5–70)	< 0,0001 ( <i>t</i> = 9,19)
P-гр <sup>-</sup>	29 (54,5)	$0,21 \pm 0,17$ (0–5)	

\*у табл. 2, 3, 4 — M ± m, в дужках — граничні показники.

Визначено прогностичним параметром є поширеність процесу. Як наведено у табл. 3, відзначають пряму залежність між рівнем експресії P-гр, розміром пухлини (T) і генералізацією пухлинного процесу (M); водночас не виявлено залежності між рівнем експресії P-гр та ураженням регіонарних лімфоколекторів (N).

Таблиця 3

Рівень експресії P-гр та поширеність пухлинного процесу

Поширеність пухлинного процесу, p TNM	n	Рівень експресії P-гр, %*
T1N0M0 (1)	13	$5,7 \pm 3,2$ (0–40)
T2N0M0 (2)	20	$22,9 \pm 4,9$ (0–70)
T1-2N1M0 (3)	12	$2,5 \pm 2,5$ (0–30)
T1-2N1M1 (4)	2	$37,5 \pm 7,5$ (30–45)

Аналогічні дані встановлені при порівнянні варіантних рядів вказаних параметрів (рис. 1)

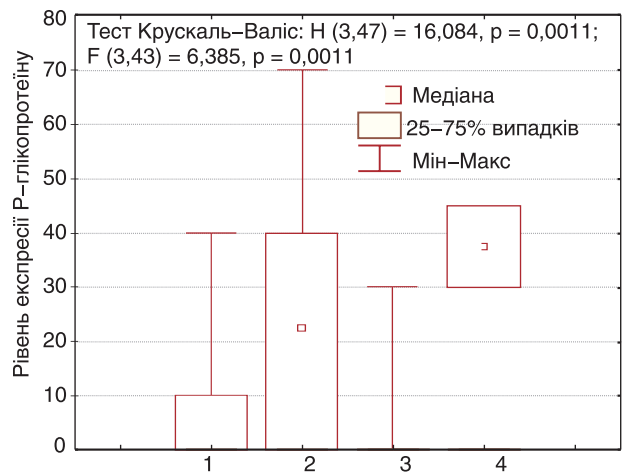


Рис. 1. Варіабельність рівня експресії P-гр у тканині СМЗ залежно від поширеності пухлинного процесу: 1, 2, 3, 4 — клінічна стадія.

Проведено аналіз зв'язку між інтенсивністю експресії P-гр та гістологічним типом СМЗ. Для репрезентативності вибірки відібрано пацієнток із гістологічними типами пухлин, що виявляють найчастіше: ангіо-, фібро-, ліпо- та ангіолейоміосаркоми МЗ. Визначено середній рівень та частоту експресії P-гр у СМЗ різних гістологічних типів (табл. 4, 5).

Таблиця 4

Рівень експресії P-gr у СМЗ різних гістологічних типів

Гістологічний тип	n	Рівень експресії P-gr, %*
Фібросаркома	19	19,7 ± 4,8 (0 – 70)**
Ліпосаркома	6	20,2 ± 8,9 (0 – 40)
Ангілейоміосаркома	6	9,2 ± 7,4 (0 – 45)
Ангіосаркома	19	6,4 ± 2,8 (0 – 45)**

\*\*F = 2,18, p = 0,1

Таблиця 5

Частота експресії P-gr у СМЗ різних гістологічних типів

Гістологічний тип	n	P-gr <sup>+</sup> , n(%)
Фібросаркома	19	7 (36,7)
Ліпосаркома	6	3 (50,0)
Ангілейоміосаркома	6	4 (66,7)
Ангіосаркома	19	13 (68,0)

Порівнювали варіантні ряди експресії P-gr у СМЗ різних гістологічних типів (рис. 2).

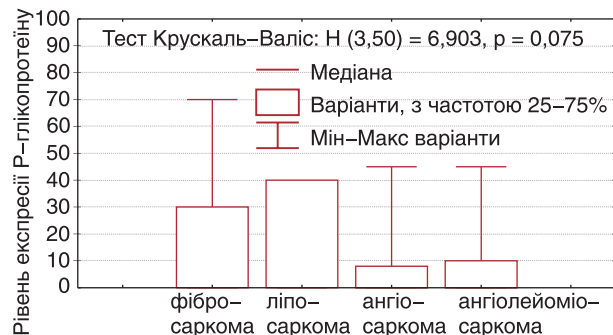


Рис. 2. Варіабельність рівня експресії P-gr у СМЗ різних гістологічних типів.

Показано, що інтенсивність експресії P-gr є найнижчою у зразках тканин ангіосарком, порівняно із ліпота фібросаркомами; виявили низький рівень експресії P-gr і у ангілейоміосаркомах. Фібросаркоми та ліпосаркоми характеризується вірогідно вищим рівнем експресії P-gr.

Для визначення прогностичної цінності експресії P-gr в СМЗ зіставили 1-, 3-, 5-річну виживаність та загальну тривалість життя хворих з різним рівнем експресії цього білка. Аналіз отриманих результатів показав, що виживаність у досліджуваній групі хворих залежить від рівня експресії P-gr у первинній пухлині. Достовірно вищою є загальна тривалість життя пацієток з P-gr<sup>-</sup>-пухлинами (рис. 3.); медіана виживаності становила P-gr<sup>+</sup>-пацієток – 20, P-gr<sup>-</sup> пацієток – 34 міс.

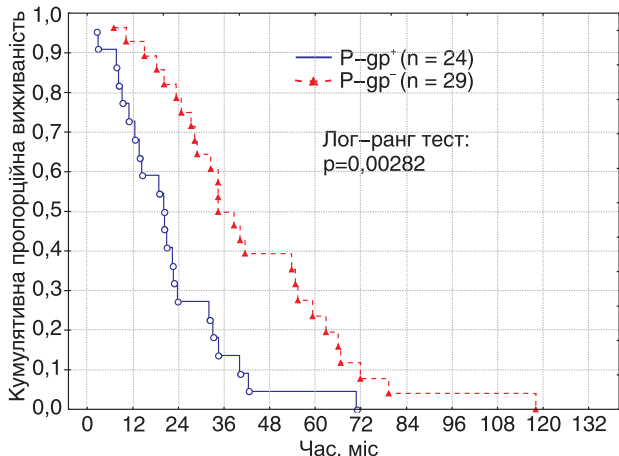


Рис. 3. Загальна тривалість життя хворих на СМЗ, залежно від присутності чи відсутності експресії P-gr (метод Каплан – Майєра).

1-річна виживаність пацієток з СМЗ із P-gr<sup>-</sup> пухлинами вища на 20, 3-річна – 36 та 5-річна – на 19% (рис. 4).

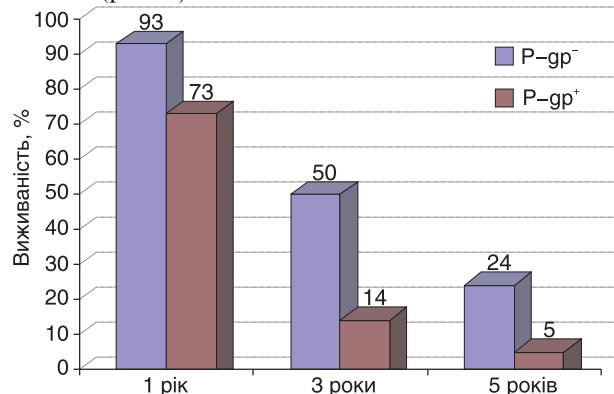


Рис. 4. Виживаність P-gr<sup>+</sup> - і P-gr<sup>-</sup>-пацієток.

Для порівняння ефективності проведеного медикаментозного лікування відібрали пацієток, які у додаток до оперативної терапії отримували схеми поліхіміотерапії (ПХТ) на основі антрациклінів, без урахування експресії P-gr (рис. 5).

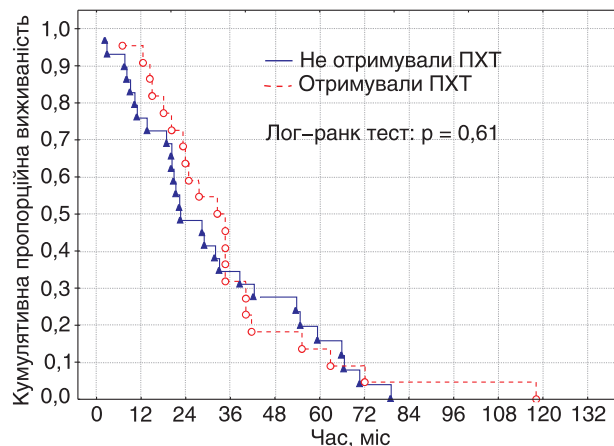


Рис. 5. Загальна тривалість життя хворих на СМЗ залежно від застосування ПХТ, без урахування експресії P-gr.

Продемонстровано, що медіана виживаності пацієток, котрі не отримували ПХТ, на 12 міс нижча порівняно з тими, які проходили ПХТ. Проведено аналогічний аналіз ефективності медикаментозного лікування, але із урахуванням експресії P-gr (табл. 6, рис.6).

Таблиця 6

Розподіл хворих на СМЗ за проведеним лікуванням та наявністю експресії P-gr

Експресії P-gr,	n (%)	ПХТ	
		проводили, n (%)	не проводили, n (%)
P-gr <sup>-</sup>	28 (56,0)	13 (46,4)	15 (53,6)
P-gr <sup>+</sup>	22 (44,0)	5 (22,7)	17 (77,3)

Продемонстровано, що медіана виживаності пацієток із P-gr<sup>+</sup> СМЗ незалежно від застосування медикаментозного лікування однаково низька – 20 міс. Значно вищі показники виживаності у хворих із на P-gr<sup>-</sup> СМЗ. Проте групи хворих нерівнозначні: у групу, де проводили ПХТ, увійшли пацієтки з більш поширеною хворобою, внаслідок чого використовували агресивнішу терапію. Встановлено достовірно негативний кореляційний зв'язок між рівнем

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

експресії P-гр та загальною виживаністю ( $r = -0,5$ ;  $p < 0,001$ ), що свідчить про потенційну можливість використання даного показника як прогностичного маркера; для підтвердження цього спостереження застосовували метод багатопоказникового аналізу (пропорційних регресійних моделей ризику Кокса).

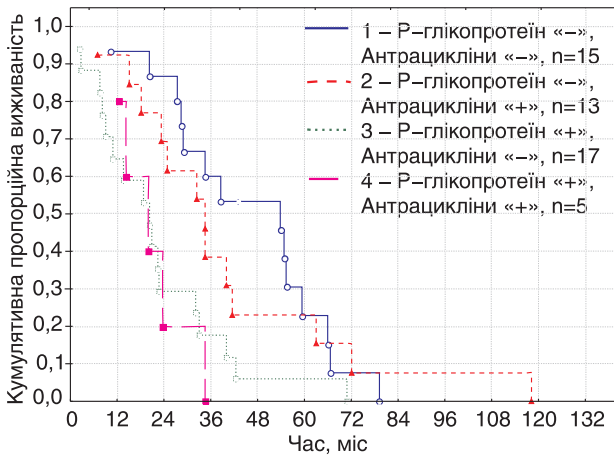


Рис. 6. Загальна тривалість життя хворих на СМЗ залежно від застосування ХТ з урахування експресії P-гр.

З високим ступенем вірогідності доведено, що рівень експресії P-гр є незалежним прогностичним фактором прогнозу виживаності хворих на СМЗ ( $t = 3,0$ ;  $p = 0,002$ ). Таким чином, можна стверджувати, що існує тісний взаємозв'язок між експресією P-гр у пухлинній тканині та виживаністю хворих на СМЗ.

### ВИСНОВКИ

1. СМЗ характеризується неоднорідністю експресії P-гр, що є основою для розподілу хворих на групи з експресією чи без неї для можливості передбачення перебігу хвороби та вибору оптимальної тактики лікування.

2. Виживаність пацієток з СМЗ залежить від рівня експресії P-гр, і є достовірно вищою за відсутності останньої.

3. Встановлено, що рівень експресії P-гр є достовірним незалежним фактором прогнозу виживаності хворих на СМЗ.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Blanchard DK, Reynolds CA, Grant CS, *et al.* Primary nonphyllodes breast sarcomas. *Am J Surgery* 2003; **186** (4): 359–61.

2. Johnstone PA, Pierce LJ, Merino MJ, *et al.* Primary soft tissue sarcomas of the breast. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1993; **27** (3): 671–5.

3. Confavreux C, Lurkin A, Mitton N, Blondet R. Sarcomas and malignant phyllodes tumours of the breast — A retrospective study. *Europ J Cancer* 2006; **4**: 1432–42.

4. Макаренко Н.П. Предопухольевые заболевания и опухоли молочной железы. Справочник по онкологии / Под ред акад РАМН НН Трапезникова и проф ИВ Поддубной / М: 1996; Вып 4: 195–9.

5. Тюляндин С.А. Мишени лекарственной терапии будущего. Матер третьей ежегод Рос онкол конф, 29 ноября – 1 декабря 1999 г. Санкт-Петербург, 1999: 43–9.

6. Ambudkar SV, Dey S, Hrycyna CA, *et al.* Biochemical, cellular, and pharmacological aspects of the multidrug transporter. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1999; **39**: 361–98.

7. Levine EA, Holzmayer T, Bacus S, *et al.* Evaluation of newer prognostic markers for adult soft tissue sarcomas. *J Clin Oncol* 1997; **15** (10): 3249–57.

8. Coley HM, Verrill MW, Gregson SE, *et al.* Incidence of P-glycoprotein overexpression and multidrug resistance (MDR) reversal in adult soft tissue sarcoma. *Europ J Cancer* 2000; **36** (7): 881–8.

9. Rafael E, Jimenez M, Mark M, *et al.* Multidrug resistance phenotype in high grade soft tissue sarcoma. Correlation of P-glycoprotein immunohistochemistry with pathologic response to chemotherapy \*Conference: 87th Annual Meeting of the United States and Canadian Academy of Pathology, Boston, Massachusetts, 28 February 1998 to 6 March 1998. *Cancer* 1999; **86**: 976–81.

### BREAST SARCOMAS – PROGNOSIS OF DISEASE IN THE ASPECT OF MULTI-DRUG RESISTANCE

O.V. Shuliga-Nedaykhebova, N.Y. Lukjanova,  
K.O. Galakhin, I.I. Smolyanka, D.O. Mykytenko,  
V.F. Chekhun

**Summary.** Reported are findings of P-glycoprotein (P-gp) expression in samples of breast cancer sarcoma (BCS) as well as its relationships with clinical characteristics and treatment efficacy. High levels of P-gp expression in the tumor tissue has been reported to be associated with poor prognosis and low survival rates. It is considered to be a marker of a more malignant phenotype. These findings may have important implications for the treatment of breast sarcoma patients, and warrant further prospective investigation in a larger patient population.

**Key Words:** breast sarcoma, P-glycoprotein, multidrug resistance, prognosis.

#### Адреса для листування:

Шуліга-Недайхлебова О.В.  
03022, Київ, вул. Ломоносова 33/43,  
Інститут онкології АМН України,  
відділ пухлин молочної залози