

## РОЛЬ ТКАНЕВЫХ МАРКЕРОВ В ОЦЕНКЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ И ПРОГНОЗЕ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Профессор И.С. ШПОНЬКА, В.А. БОНДАРЕВА, П.А. ГРИЦЕНКО

*Днепропетровская государственная медицинская академия*

**Проведен обзор тканевых маркеров, имеющих большое прогностическое значение при раке молочной железы, определяемых с помощью иммуногистохимических методов исследования. Сделан вывод о целесообразности изучения всех указанных маркеров, поскольку они будут способствовать коррекции терапевтических приемов при раке молочной железы.**

Рак молочной железы (РМЖ) занимает ведущее место в структуре онкологической заболеваемости женщин (в среднем 26%), а частота неуклонно растет и имеет тенденцию к омоложению.

РМЖ — полиэтиологическое заболевание, в этиологии и патогенезе которого играют большую роль различные факторы, в том числе наследственные (случаи семейных РМЖ с мутацией гена BRCA 1/2) и репродуктивные факторы (раннее менархе, отсутствие в анамнезе родов или поздние роды, инфертильность и др.). Главное влияние на развитие РМЖ оказывает изменение гормонального баланса — высок риск его развития у женщин, в плазме крови которых в постменопаузе изменяется соотношение уровня тестостерона, андростенедиона и глобулина, связывающего половые гормоны (SHBG). Существует также эстроген-прогестероновая теория развития РМЖ (частота РМЖ у женщин с повышенным содержанием эстрогена в тканях и плазме ниже, чем у женщин, у которых повышен уровень двух гормонов одновременно). Согласно этой теории пролиферация клеток активизируется больше в лютеиновой фазе менструального цикла, чем в фолликулиновой. У пациенток с РМЖ в пременопаузе не обнаружено статистически достоверной зависимости от уровня эндогенных гормонов.

Метаболическая теория, в которой придается значение повышенной массе тела и гиподинамическому образу жизни, связана с развитием резистентности к инсулину, которая приводит к повышению его выработки. Высокий выброс инсулина, а также инсулинподобного фактора роста (IGF) способствует повышению синтеза яичниками и/или надпочечниками половых гормонов, в частности андрогенов, и снижению образования печени SHBG. У женщин в постменопаузе это обуславливает повышение уровня эстрогена и соответственно увеличивает риск развития РМЖ.

Кроме того, повышению риска развития РМЖ способствует диета. Высококалорийная диета с большим количеством животных протеинов и липидов в сочетании с гиподинамическим образом жизни в западных странах повышает риск развития РМЖ (частота РМЖ составляет 70–90 случаев на 100 000 в год). Это объясняют действием IGF-1, уровень которого сильно повышается при гликемии. IGF-1 запускает синтез гормонов яичниками, а также ингибирует глобулин, связывающий половые гормоны, тогда как диета, включа-

ющая овощи и фрукты, способствует снижению риска развития РМЖ.

Многообразие механизмов развития РМЖ осложняет разработку профилактических и терапевтических мероприятий, тем не менее прогноз этого заболевания на ранних стадиях относительно благоприятен, в то время как верификация процесса на поздних стадиях при наличии метастазов обуславливает высокую инвалидность и смертность пациенток и снижает эффективность всех подходов в тактике лечения.

Чрезвычайная сложность канцерогенеза и трудности ранней диагностики РМЖ делают выбор оптимальной схемы его лечения задачей первостепенной важности.

Анализ большого количества наблюдений показал, что гистоструктура РМЖ в определенной степени влияет на течение заболевания, однако определить индивидуальный прогноз на этом основании не представляется возможным. В связи с этим оценка разнообразных биологических свойств опухолевой ткани, которая отражает ключевые звенья возможных патогенетических механизмов развития РМЖ, является весьма обнадеживающей и перспективной.

Коллегия американских патологов в 1999 г. [1] разработала комплекс прогностических факторов, имеющих принципиальное значение при РМЖ, которые структурированы в три категории по степени клинической значимости и востребованности.

В первую категорию входят следующие факторы.

Размер опухоли. Частота регионарных метастазов у пациенток с размерами опухоли менее 1 см не превышает 10–20%. Кроме того, 10-летняя выживаемость больных с опухолью таких размеров при интактных лимфоузлах составляет около 90%. При оценке размера опухоли необходимо измерять узел в трех проекциях и в тех случаях, когда проводилась трепанобиопсия, производить поправку на гистологическую форму (при инфильтрирующем протоковом РМЖ размер узла реально больше).

Статус лимфоузлов — главный дискриминирующий признак. 10-летняя выживаемость пациенток с пораженными лимфоузлами составляет менее 70%. Необходимо помнить и о возможных микрометастазах (менее 2 мм в диаметре). С помощью иммуногистохимического метода исследования (ИГХ) было установлено, что в 9–13% случаев имели место микрометастазы в лимфоузлах, первично оцененных с помощью традиционных методов как интактные.

Гистологическая форма и степень дифференцировки опухоли. Тубулярные, медуллярные, аденокистозные формы имеют более благоприятный прогноз, нежели рак с метаплазией, рак Педжета.

Количество митотических фигур (подсчет не менее чем в 10 полях зрения).

Определение рецепторов к эстрогенам и прогестеронам. Наиболее распространенным методом, позволяющим при простоте проведения получить объемную информацию об уровне этих (и других) рецепторов, является ИГХ с использованием моно- и поликлональных антител (МКАТ, ПКАТ).

Ко второй категории отнесены экспрессия эпидермального фактора роста, p53-онкопротеина, маркера пролиферации Ki-67 и наличие инвазии в лимфатические или кровеносные сосуды. Наконец, в третью категорию входят показатели плоидности опухоли, активности ангиогенеза, экспрессия pS2-протеина, bcl-2-онкопротеина, катепсина D, EGF.

Главным залогом успеха терапии онкологических больных являются чувствительность опухоли к выбранным препаратам и отсутствие пула клеток, резистентных к действию цитостатиков.

На сегодняшний день имеются данные о большом наборе молекулярных и клеточных маркеров, позволяющих оценить степень чувствительности опухолевых клеток к терапии, которые могут быть использованы в качестве прогностических маркеров, и выделить декретированные группы больных, нуждающихся в более тщательном наблюдении в связи с неблагоприятным прогнозом [2].

## РЕЦЕПТОРЫ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ

Рецепторы стероидных гормонов — протеины, специфически и избирательно связывающие соответствующие стероиды после их проникновения в клетку и опосредующие, таким образом, их биологические эффекты (влияние на дифференцировку, рост, адаптацию клетки при смене метаболических условий, индукцию биосинтеза белка). Интенсивность проникновения гормона зависит от размеров молекул и растворимости их в липидах мембран. После проникновения гормона в клетку он связывается с внутриклеточным рецептором, транспортируется к ядру клетки, «наводится» к соответствующему гистону хромосомы, активируя факторы транскрипции.

Внутриклеточная концентрация рецепторов к эстрогенам (ER) и прогестеронам (PgR) способствует осуществлению регуляции взаимоотношений между паренхимой и стромой в молочной железе. В норме в эпителии молочной железы наблюдается невысокая экспрессия ER и PgR (7–30% клеток в зависимости от фазы цикла или гормонального фона), тогда как при опухолевой трансформации значительно повышается экспрессия обоих маркеров [3]. В строме не отмечается их экспрессии, несмотря на то что в фибробластах обнаружены рецепторы к ER и PgR.

Стероидные гормоны, в частности рецепторы к ER и PgR, имеют большое значение в онкогенезе и опухолевой прогрессии (причем их экспрессия зависит от возраста пациентки — чем она старше, тем

больше уровень презентуемых клеток). При развитии РМЖ повреждение в сигнальных механизмах одного или двух рецепторов обнаруживается достаточно часто (речь идет об экспрессии конформативно измененных изоформ рецепторов к ER (ER<sup>+</sup>, ER<sup>-</sup>)/PgR, являющихся лигандзависимыми факторами транскрипции) [4]. M. Macaluso et al. [5] в своей работе показали критическую роль ER и его лиганда 17-эстрадиола в онкогенезе РМЖ. Кроме того, по их мнению, комплекс pRb2/p130 связывается с промотором ER и, таким образом, участвует в повреждении структуры хроматина и метилирования ДНК [6].

Озлокачествление клеток и опухолевая прогрессия зависят не только от генетических трансформаций, но также от нарушения соотношения ферментов в ткани молочной железы. В опухолевой ткани содержится большой набор ферментов — эстрон-сульфатаза, 17-гидроксистероидная дегидрогеназа, ароматаза, участвующая в последних этапах биотрансформации ER, сульфотрансфераза, конвертирующая ER в биологически неактивный ER-сульфат. J.R. Pasqualini et al. [7] показали, что «сульфатазный путь» опухолевой прогрессии, при которой сульфатированный неактивный ER превращается в биологически активный неконъюгированный, является в 100–500 раз более интенсивным, чем описанный на сегодня «ароматазный путь», при котором происходит конвертация андрогенов в ER.

Кроме того, было показано, что у пациентов с высоким уровнем стероидной сульфатазы прогноз гораздо хуже по сравнению с лицами с низким уровнем сульфатазы, даже при ER<sup>+</sup> иммуногистохимическом статусе РМЖ. Синтез PgR опосредуется ER и осуществляет реакцию клеток на прогестины (также через лигандзависимый путь) и, таким образом, отражает аналогичное ER действие на опухолевую ткань. Уровень экспрессии PgR у женщин в менопаузе выше, чем ER, тогда как в постменопаузе отмечается обратная тенденция. Этот феномен объяснили в своей работе S. Saji et al. [8]. По их мнению, у женщин в менопаузе повышается уровень рецепторов ER $\alpha$ , которые конкурентно ингибируют экспрессию PgR. Аналогично димерам ER (ER $\alpha$ , ER $\beta$ ) PgR также существует в двух формах — PgR-A и PgR-B, которые принимают участие в экспрессии ER-зависимых генов.

ER/PgR-рецепторный статус первичной опухоли молочной железы признан одним из наиболее мощных прогностических маркеров клинического исхода и связан с обоснованием адекватной гормональной терапии — в случаях ER- или PgR-положительной опухоли последняя может управляться и контролироваться антиэстрогеновыми препаратами, а в дальнейшем предполагается хирургическая или медикаментозная кастрация [9]. Индивидуально подобранная тактика ведения больной существенно влияет на течение заболевания и качество жизни; при этом следует помнить, что чем больше уровень экспрессии презентуемых ER- или PgR-рецепторов, тем большим будет эффект проводимой гормональной терапии, тем более оптимистичным будет прогноз. Так, если опухоль только ER-положительна, то ее чувствительность к проводимой терапии состав-

вит 55–60%; если же опухоль ER/PgR-позитивна, чувствительность ее к гормональной терапии будет составлять уже 80%.

Поскольку качество ответа на терапию все-таки зависит от уровня экспрессии рецепторов, следует учитывать определенную диссоциацию в количестве окрашенных клеток и интенсивность окрашивания по каждому маркеру отдельно: если специфически окрашено от 10 до 30% опухолевой ткани, то чувствительность опухоли к терапии будет составлять 20%; если от 30 до 70%, эффективность терапии составит 50%; если окрашено от 70 до 100% клеток, эффективность будет равна 75–80%, в связи с чем оценка «+» или «-» (есть рецепторы в ткани или нет) не несет полной информации.

Оценка рецепторного статуса может определяться различными методами: радиолигандным, иммуноферментным (количественные методы), ИГХ. В принципе значения, полученные этими способами, коррелируют между собой, но методу ИГХ сейчас отдается предпочтение, поскольку принадлежность рецепторов определяется именно в опухолевой ткани, есть возможность работы с архивным материалом. Большим достоинством ИГХ является также простота и экономическая эффективность [10].

### ФАКТОРЫ РОСТА

Кроме выявления рецепторов к ER и PgR с помощью ИГХ возможно определение факторов опухолевого роста и прогрессии (путем аутокринной и/или паракринной регуляции), отражающих способность опухоли к саморегулируемому росту. К факторам опухолевого роста относятся основной фактор роста фибробластов (bFGF); трансформирующий фактор роста (TGF); инсулиноподобный фактор роста (IGF); эпидермальный фактор роста, имеющий определяющее значение при РМЖ (семейство EFGF); фактор роста эндотелия сосудов (VEGF). Возрастающий интерес исследователей к факторам роста связан с поиском и созданием препаратов на основе гуманизированных моноклональных антител, позволяющих заблокировать рецепторы к этим факторам и таким образом стабилизировать опухолевый рост.

*HER-2/neu* — эпидермальный фактор роста. За последние 20 лет наиболее изучен представитель в этой области протоонкоген *HER-2/neu* (с-erb B-2), который локализуется в 17q-хромосоме и кодирует тирозинкиназный рецептор факторов роста. *HER-2/neu* является геном семейства рецепторов эпидермального фактора роста, включающих EGFR или *HER-1* (erb-B1); *HER-2* (erb-B2); *HER-3* (erb-B3); *HER-4* (erb-B4). Амплификация гена или экспрессия белка *HER-2/neu* встречается при РМЖ (10–34%, по данным разных исследователей), опухолях легких, ЖКТ, женской половой системы и многих других новообразованиях.

*HER-2/neu* локализуется на мембранах клеток и после связывания с лигандами активирует киназы, а инициированная внутренняя тирозинкиназа конформативно измененного рецептора запускает реакции фосфорилирования белков, участвующих

в передаче митогенных сигналов [11]. Его коварство заключается не только в стимуляции опухоли своего роста, но также в вовлечении стромы в экспрессию рецепторов к самому фактору с последующей «косвенной» индукцией опухолевого роста (так называемый двойной механизм опухолевой прогрессии) [12]. Кроме того, экспрессия *HER-2/neu* играет более важную роль, чем большинство других факторов, в прогнозе и сроках возникновения рецидива у больных с метастазами в лимфоузлы [13].

При позитивном *HER-2/neu* статусе 5-летняя выживаемость составляет 56%, при негативном — 73%; при наличии метастазов эти показатели составляют 33 и 62% соответственно [14]. Сверхэкспрессия *HER-2/neu* свидетельствует также о резистентности опухоли к химиотерапии, в том числе к тамоксифену. У больных РМЖ с метастазами при адьювантной терапии тамоксифеном 5-летняя выживаемость при отсутствии экспрессии *HER-2/neu* равнялась 75%, а при его сверхэкспрессии снижалась до 13% [15].

В отношении корреляции ER/PgR-рецепторного статуса и *HER-2/neu* получены различные данные. Например, в ER<sup>+</sup> РМЖ может наблюдаться инверсия соотношения позитивного статуса по *HER-2/neu* и PgR. Это объясняет низкую чувствительность к антигормональной терапии РМЖ с ER<sup>+</sup>/PgR-*HER-2/neu*<sup>+</sup> статусом. Однако H.J. Huang et al. [16] в рандомизированном исследовании установили, что в пременопаузе РМЖ с ER<sup>+</sup> статусом, как правило, хорошо чувствителен к антигормональной терапии, несмотря на *HER-2/neu*<sup>+</sup> статус. Авторы определили возрастную зависимость между экспрессией этих маркеров — инверсия соотношения PgR/*HER-2/neu* имела место только после 45 лет [17].

РМЖ с негативным статусом по ER и PgR-рецепторам чаще сочетался с экспрессией *HER-2/neu* (*HER-2/neu* был позитивен в 28,7% негативных по ER РМЖ, тогда как в ER<sup>+</sup> случаях экспрессия эпидермального фактора роста составляла 6,8%). По рецепторам к PgR были получены аналогичные данные (19,9 и 5,9% соответственно). Была продемонстрирована достоверная зависимость между рецепторами к ER, PgR и эпидермальным фактором роста.

Наличие сверхэкспрессии *HER-2/neu* является показанием (при соматическом благополучии, не считая основного заболевания) к применению препарата герцептин (гуманизированное моноклональное антитело, избирательно блокирующее экстрацеллюлярный домен рецептора к эпидермальному фактору роста). Оценка уровня экспрессии *HER-2/neu* учитывает различную степень окрашивания и классифицируется от 0 до 3+. Экспрессия *HER-2/neu* подтверждается проведением FISH-метода (оценка амплификации гена). При этом большее предсказательное значение имеет онкогенная продукция самого белка в отношении прогнозирования поведения опухоли по сравнению с количеством копий самого гена.

Таким образом, маркер *HER-2/neu* можно считать фактором неблагоприятного прогноза, а его высокую экспрессию — показателем высокой метастатической способности опухоли и возможной резистентности к антигормональной терапии.

*VEGF* — фактор роста эндотелия сосудов. Неоваскулогенез в опухолевой ткани является необходимым условием ее роста и инвазивности и, кроме того, играет большую роль в развитии метастазов. VEGF, будучи лигандом 2-го типа VEGF-рецептора, оказывает значительное влияние на ангиогенез в опухоли. Секретия злокачественными клетками VEGF приводит к стимуляции роста эндотелиальных клеток и увеличению проницаемости капилляров. В свою очередь, увеличение проницаемости сосудов влечет за собой инфильтрацию плазматическими белками, далее — к изменению межклеточного матрикса и наконец — к образованию новых сосудов.

VEGF экспрессируется большинством типов опухолей, включая РМЖ, причем уже на ранних стадиях последнего экспрессия VEGF свидетельствует об ухудшении показателей выживаемости, укорочении безметастазного и безрецидивного периодов у пациенток вне зависимости от статуса лимфоузлов. Высокая экспрессия этого фактора коррелирует с негативным ER/PgR-рецепторным статусом, отсутствием эффекта антиэстрогеновой терапии, экспрессией *mt p53* и низкой степенью гистологической дифференцировки опухоли. В последнее время было показано, что неоваскулогенез в опухолевой ткани инициируется очень рано — когда сформировался кластер из 100–300 опухолевых клеток, в связи с чем разработка препаратов антиангиогенного действия представляется весьма актуальной, поскольку позволит предупредить метастатический каскад.

На сегодняшний день получено гуманизированное моноклональное антитело к VEGF — бевацизумаб, которое (по аналогии с трастузумабом при HER-2/неу-позитивном статусе) в качестве монотерапии или в комбинации с химиотерапией приводит к снижению ангиогенеза и подавлению роста солидных опухолей [18].

### РЕГУЛЯТОРЫ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА

Одним из механизмов опухолевой трансформации и прогрессии является нарушение регуляции клеточного цикла с ингибированием апоптоза и активацией пролиферации. В связи с этим особое значение имеет изучение протеинов, регулирующих клеточный цикл и инициирующих пролиферацию (маркер пролиферации Ki-67, циклин E, циклинзависимые киназы), а также протеинов — блокаторов апоптоза p53, bcl-2 и др.

*p53-онкопротеин*. В последнее время доказано, что в эукариотических клетках противоопухолевые препараты индуцируют апоптоз также посредством повреждения ДНК и/или гибели клеток, способных к выработке факторов роста. Программируемая клеточная гибель является зависимым процессом, как это следует из названия, т.е. для ее активации необходимы специфические гены, а именно активация гена *wt p53* (маркера апоптоза), после чего индуцируется процесс апоптоза.

В обычных условиях ген *p53* служит «защитником» генома, «реаниматором» ДНК, а также индуктором апоптоза. При сублетальных повреждениях ДНК

данный ген блокирует клеточный цикл в G<sub>1</sub>-фазе, запускает процессы восстановления ДНК и, в зависимости от результата, определяет дальнейшую судьбу клетки. Следовательно, *p53* является ограничителем пролиферативной активности клеток и ингибитором злокачественных трансформаций.

Ряд исследований дает основание полагать, что мутация *p53*, пожалуй, наиболее часто встречается в онкогенезе. Впервые связь *p53* с развитием РМЖ была установлена в 1982 г. [19], когда было показано наличие циркулирующих антител к *p53* у больных с опухолями молочной железы, причем именно у тех пациенток, которые имели висцеральные метастазы. Тогда же автор предположил, что, возможно, изменяется содержание *p53*, нарушается его тип или презентация в клетке и, следовательно, он становится иммуногенным.

В настоящее время описаны два типа *p53*-протеина: *wt* (wild type) *p53* — «дикий» тип *p53*, присутствующий во всех пролиферирующих и регенерирующих тканях и определяющий апоптотический путь элиминации клеток. Одним из «стратегических» решений опухолевой ткани представляется мутация гена с синтезом «мутантного» типа (*mt p53*) белка, имитирующего свойства «дикого» и, таким образом, ускользающего из-под влияния системы иммунного надзора.

К утрате супрессорных свойств могут приводить различные изменения в геноме — делеции, реверсии, точечные мутации. При этом, с одной стороны, действие *wtp53* нивелируется *mt53* в связи с тем, что *wtp53* обладает коротким периодом полураспада, поэтому определить его в тканях с высокой пролиферацией и апоптозом в типичных условиях достаточно трудно (пороговая концентрация в виде нестабильных олигомерных комплексов); с другой стороны, *mtp53* оказывает супрессорное действие на резидуальный *wtp53*; кроме того, накапливается *mtp53*, «маскирующий» опухолевую клетку под апоптотически погибающую (обладающий теми же внешними признаками).

Накопление *mtp53* свидетельствует об агрессивном поведении этой формы РМЖ, более коротком безметастазном и безрецидивном периоде, худшем прогнозе и необходимости более «жесткой» терапии. *p53* также может использоваться в комплексном исследовании РМЖ в качестве независимого прогностического маркера, особенно у пациенток с интактными лимфоузлами, что будет способствовать отбору больных, потенциально чувствительных к химио- или лучевой терапии [20].

Н. Sobol в своем исследовании [21] продемонстрировал взаимосвязь экспрессии *mtp53* у лиц с синдромом Ли–Фроумена и показал, что в наследственных формах РМЖ экспрессия *p53* связана с BRCA1, так как *p53* является опухолевым кофактором у таких больных.

Стандарт ИГХ оценки экспрессии *p53* более сложен по сравнению со стероидными рецепторами и требует осторожной интерпретации, поскольку позитивный статус существенно влияет на терапевтические подходы.

*Ki-67* — маркер пролиферативного потенциала опухоли. Степень злокачественности и дифференцировки РМЖ во многом определяется пролиферативной активностью опухолевых клеток, однако традиционный подсчет митотической активности не отражает пролиферативный потенциал опухоли, поскольку собственно митоз занимает несколько часов (что может визуализироваться при традиционном исследовании), а подготовка к нему — около 24 ч. В связи с этим изучение негистонового протеина *Ki-67* (маркера пролиферации), экспрессирующегося во всех клетках, вышедших из  $G_0$ -фазы, представляется актуальным и позволяет определить именно «скрытый» пролиферативный потенциал данной опухоли и судить о степени злокачественности, а также разделить больных на группы с относительно благоприятным и неблагоприятным прогнозом [22].

Прролиферативная активность в опухолях молочной железы в соответствии с рекомендациями M.D. Fitzgibbons et al. [1] оценивается по градациям ( $\geq 1\%$ ,  $\geq 10\%$ ,  $\geq 20\%$  опухолевых клеток), в связи с чем экспрессия *Ki-67* более чем в 20% опухолевых клеток рассматривается как крайне неблагоприятный фактор.

*Циклин E* представляет собой протеин, регулирующий клеточный цикл, который экспрессируется в конце  $G_1$ -фазы и поддерживается в клетке на протяжении S-фазы. Его экспрессия, в свою очередь, регулируется геном из семейства E2F факторов транскрипции. Циклин E связывает и активирует циклин-зависимую киназу 2 путем фосфорилирования ее субстрата. Комплекс циклин/Cdk2 инициирует целый каскад событий, приводящих к разблокировке генов, специфичных для S-фазы [23]. Кроме запуска S-фазы циклин E оказывает значительное влияние на активацию репликации ДНК, контроль генетической стабильности и цикл центросом. Более чем в половине случаев со сверхэкспрессией циклина E наблюдается мутация p53-онкопротеина и анеуплоидия — опухолевых клеток. Высокая экспрессия циклина E отражает крайне неблагоприятное течение опухолевого процесса, особенно у пациенток, не получавших химиотерапию, и, как правило, сопровождается мутацией BRCA-1 [24].

*bcl-2-онкопротеин* — маркер, свидетельствующий о блоке апоптоза в опухолевой ткани (экспрессия *bcl-2* способствует защите клеток от инициации гибели и отсутствия ответа при проведении химиотерапии). Однако в отношении РМЖ получены совершенно противоположные результаты: для РМЖ повышенная экспрессия *bcl-2* связана с хорошим прогнозом и чувствительностью опухоли к тамоксифену. Было установлено [25, 26], что экспрессия *bcl-2* коррелирует с позитивным ER-статусом и более длительным безметастазным и безрецидивным периодом по сравнению с *bcl-2*-негативными РМЖ. P. Hellemans et al. [27] не определил прогностического значения *bcl-2* у пациенток с интактными лимфоузлами, но показал, что негативный статус по *bcl-2*-онкопротеину у больных с пораженными лимфоузлами сопровождается редукцией периода клинического благополучия.

## ИНТЕГРИНЫ

*pS<sub>2</sub> (пресенилин)* — протеин, синтез которого активируется ER (причем в большей степени фракциями ER [28]), а также факторами роста и онкопротеинами путем индукции *pS<sub>2</sub>*-гена [29]. *pS<sub>2</sub>* экспрессируется приблизительно в половине всех случаев РМЖ [30]. Установлено, что *pS<sub>2</sub>* накапливается в слизистой оболочке интактного желудка, в регенерирующем эпителии при язвенной болезни, но его значение и физиологическая роль пока не известны. Существует предположение, что *pS<sub>2</sub>* принимает участие в интегративных взаимодействиях в ЖКТ [30].

Внутриопухолевое содержание *pS<sub>2</sub>* отчетливо коррелирует со степенью дифференцировки опухоли, с продолжительностью жизни и частотой рецидивирования, низкой пролиферативной активностью [31]. A. Ioakim-Liossi et al. [32] пришли к выводу, что прогноз у больных с ER/PgR-*pS<sub>2</sub>*-негативным профилем РМЖ значительно хуже по сравнению с прогнозом у больных с ER/PgR-*pS<sub>2</sub>*-позитивным профилем. Так, например, ряд исследователей установил, что повышенная экспрессия *pS<sub>2</sub>* свидетельствует о меньшем риске метастазирования опухоли в аксиллярные лимфоузлы и о лучшей 5-летней выживаемости [33].

В большинстве случаев в ER-позитивных опухолях экспрессируется и *pS<sub>2</sub>* (по данным разных авторов, от 85 до 96% [34]), причем уровень экспрессии *pS<sub>2</sub>* коррелирует с экспрессией ER и не взаимосвязан с выработкой PgR. Присутствие *pS<sub>2</sub>* (в отличие от PgR) свидетельствует о функциональном гетерогенитете эстрогеновой системы.

Получены обнадеживающие данные о значительном регрессе опухоли после терапии тамоксифеном при ER-*pS<sub>2</sub>*-позитивном статусе [35]. В то же время на сегодняшний день известно, что не все ER-позитивные опухоли молочной железы чувствительны к антиэстрогеновой терапии. Приблизительно 30% *pS<sub>2</sub>*-позитивных опухолей были гормононезависимыми, а 25% *pS<sub>2</sub>*-негативных — гормонозависимыми. Скорее всего, этот удивительный феномен связан либо с изменением конформации рецепторов, либо с наличием дефектов в системе регуляции [36]. По данным M.F. Pichon et al. [37], по меньшей мере 2/3 ER-позитивных опухолей молочной железы имеют разную чувствительность к гормональной терапии, причем не уточнялось, имела ли место разная выраженность рецепторного статуса либо это связано с другими факторами, роль и значение которых еще не известны.

## МАРКЕРЫ КЛЕТОЧНОЙ КЛАСТЕРНОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ

*Синдекан-1 (CD138)* представляет собой поверхностный протеогликан (гепаран-сульфат, ко-рецептор фактора роста), который осуществляет регуляцию клеточной пролиферации, миграции, взаимодействие компонентов экстрацеллюлярного матрикса и основного фактора роста фибробластов, адгезию неопластических клеток в строме и, таким образом, отражает инвазивные свойства опухолевой ткани [38]. Как ни парадоксально, в некоторых

случаях онкологических заболеваний утрата экспрессии синдекана-1 свидетельствует о худшем прогнозе, тогда как для РМЖ получены противоположные результаты. При высоком уровне экспрессии синдекана-1 существенно повышается смертность при РМЖ.

Но и при РМЖ (обнаруживается в 42% случаев) в отношении синдекана получены разные данные, в зависимости от локализации экспрессии. Синдекан-1 экспрессируется как в эпителии, так и в строме опухолевой ткани (61 и 67% соответственно). Экспрессия синдекана в эпителиальном компоненте опухоли коррелирует с негативным ER-статусом, тогда как в строме — с ER-позитивным статусом. При наличии экспрессии синдекана-1 в эпителиальном компартменте опухоли 10-летняя выживаемость составляет 65%, а при его отсутствии — 82% [39]. Высокая экспрессия синдекана-1 ассоциирована с высокой степенью дифференцировки, большим размером опухоли, высокой митотической активностью, сверхэкспрессией HER-2/neu и негативным ER/PgR статусом.

М. Barbareschi et al. [40] в своих исследованиях установили, что летальность пациентов с РМЖ со сверхэкспрессией синдекана-1 и получавших терапию по CMF-схеме очень высока.

#### МОЛЕКУЛЫ КЛЕТочНОЙ АДГЕЗИИ

*E-кадгерин* из семейства  $Ca^{2+}$ -зависимых молекул клеточной адгезии, в обычных условиях экспрессирующийся в ткани молочной железы, может также использоваться как маркер прогноза течения РМЖ (имеется в виду дольковый рак в связи с активизацией опухолевого роста из-за утраты клеточных взаимодействий) и клинического исхода в связи с ухудшением течения заболевания при утрате этого маркера [41]. При анализе экспрессии E-кадгерина в дольковом РМЖ учитывается только мембранное распределение метки. По данным Е.А. Rakha et al. [42] экспрессия E-кадгерина классифицируется как типичная при среднем значении более 100 (10% окрашенных клеток), атипичная — при значении экспрессии  $\leq 100$  (менее 10%). В 7,2% случаев при дольковом РМЖ отмечается отсутствие экспрессии E-кадгерина.

Таким образом, утрата экспрессии E-кадгерина свидетельствует о худшем прогнозе течения долькового РМЖ. В отношении протокового РМЖ получена

информация о корреляции повышенной экспрессии E-кадгерина с HER-2/neu [43] и достоверно худшем прогнозе таких гистологических форм. Следовательно, необходимо указывать клиницистам гистологическую форму РМЖ для правильного представления о свойствах опухоли.

#### МАТРИКСНЫЕ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ

Изучение экспрессии опухолевыми клетками матриксных металлопротеиназ целесообразно также при оценке ИГХ статуса РМЖ, поскольку отражает способность к деградации экстрацеллюлярного матрикса, разрушению базальных мембран, к метастазированию и инвазии.

*Матриксные металлопротеиназы (ММП) 2/9.* Наиболее изученными при РМЖ являются ММП 2-го и 9-го типов. На сегодняшний день 5-летняя выживаемость больных с ER<sup>-</sup> ММП9<sup>+</sup> статусом составляет 37%, тогда как при ER<sup>-</sup> ММП9<sup>-</sup> — 63% [44]. При оценке экспрессии ММП9 необходимо учитывать реакцию и в опухолевой ткани, и в строме. Авторы [45] считают, что повышенная экспрессия ММП9 в строме опухоли свидетельствует о худшем прогнозе, при экспрессии в паренхиме опухоли не получено сведений о прогнозе. Т.Н. Mitropoulou et al. [46] установили, что летрозол ингибирует экспрессию ММП и, таким образом, снижает риск рецидивирования и отдаленного метастазирования.

Таким образом, несмотря на то что ER/PgR/HER-2/neu статус в настоящее время является «золотым стандартом», позволяющим проводить адекватную адьювантную и неадьювантную терапию, представляется целесообразным изучать все указанные маркеры, поскольку они будут способствовать коррекции терапевтических приемов и выделению декретированных групп больных. Задача как морфологов, так и онкологов, работающих в этой области, — определение того набора наиболее значимых, дополняющих друг друга показателей, который позволил бы при минимально возможной стоимости обследования обеспечить максимальную эффективность лечения каждой пациентки. Спектр исследования, интересующий клиницистов, в каждом конкретном случае зависит от гистологической формы, стадии заболевания, клинической группы, возраста больной, планируемой схемы терапии и материально-технической базы учреждения.

#### Литература

1. Prognostic Factors in Breast Cancer / M.D. Fitzgibbons et al. // Arch. Pathol. Lab. Med.— 2000.— Vol. 124.— P. 966–978.
2. Goradimi D., Diadone M.G. Biomolecular prognostic factors in breast cancer // Curr. Opin. Obstet. Gynecol.— 2004.— Vol. 16., № 1.— P. 49–55.
3. Increased estrogen receptor betacx expression during mammary carcinogenesis /M. Esslimani-Sahla et al. // Clin. Cancer. Res.— 2005.— Vol. 11, № 9.— P. 3170–3174.
4. Cell cycle regulation of breast cancer cells through estrogen-induced activities of ERK and Akt protein kinases / N. Geffroy et al. // Mol. Cell Endocrinol.— 2005.— Vol. 237, № 1.— P. 11–23.
5. Macaluso M., Montanari M., Giordano A. The regulation of ER- $\alpha$  transcription by pRb2/p130 in breast cancer // Ann. Oncol.— 2005.— № 4.— P. 20–22.
6. Felty Q., Singh K.P., Roy D. Estrogen-induced G(1)/S transition of G(0)-arrested estrogen-dependent breast cancer cells is regulated by mitochondrial oxidant signalling // Oncogene.— 2005.— May 16.

7. *Pasqualini J.R., Chetrite G.S.* Recent insight on the control of enzymes involved in estrogen formation and transformation in human breast cancer // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.*— 2005.— Vol. 93, № 2.— P. 221–236.
8. Expression of estrogen receptor (ER) (beta)cx protein in ER(alpha)-positive breast cancer: specific correlation with progesterone receptor // *S. Saji et al. // Cancer Res.*— 2002.— Vol. 62, № 17.— P. 4849–4853.
9. *Elwood V. E., Craig V.J.* The Estrogen Receptor: A Model for Molecular Medicine // *Clin. Cancer Res.*— 2003.— Vol. 9.— P. 1980–1989.
10. *Dabbs D.J.* Diagnostic immunohistochemistry.— Churchill Livingstone, 2002.— 676 p.
11. Endogenous anti-HER2 antibodies block HER2 phosphorylation and signaling through extracellular signal-regulated kinase / *R.B. Montgomery et al. // Cancer Res.*— 2005.— Vol. 65, № 2.— P. 650–656.
12. *Moghal N., Sternberg P.W.* Multiple positive and negative regulators of signaling by the EGF-receptor // *Cur. Opinion on Cell Biol.*— 1999.— Vol. 11.— P.190–196.
13. The predictive power of semiquantitative immunohistochemical assessment of p53 and c-erb B-2 in lymph node-negative breast cancer / *F.P. O'Malley et al. // Hum. patol.*— 1996.— Vol. 27, № 9.— P. 955–963.
14. *Петров С.В., Райхлин Н.Т.* Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека.— Казань, 2004.— 452 с.
15. Prognostic value of c-erbB2 expression in breast cancer / *S. Tsutsui et al. // J. Surg. Oncol.*— 2002.— Vol. 79, № 4.— P. 216–223.
16. Association between HER-2/neu and the progesterone receptor in oestrogen-dependent breast cancer is age-related / *H.J. Huang et al. // Breast Cancer Res. Treat.*— 2005.— № 1.— P. 81–87.
17. *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, № 6.— P. 611–616.
18. *Rugo H.S.* Bevacizumab in the treatment of breast cancer: rationale and current data // *Oncologist.*— 2004.— Vol. 9, № 1.— P. 43–49.
19. *Crawford L.V., Pim D.C., Bulbrook R.D.* Detection of antibodies against the cellular protein p53 in sera from patients with breast cancer // *Int. J. Cancer.*— 1982.— Vol. 30, № 4.— P. 403–408.
20. *Hawkins D.S., Demers G.W., Galloway D.A.* Inactivation of p53 enhances sensitivity to multiple chemotherapeutic agents // *Cancer Res.*— 1996.— Vol. 56.— P. 892–898.
21. *Sobol H.* BRCA1-p53 relationship in hereditary breast cancer / *Int. J. Oncol.*— 1997.— Vol. 10.— P. 349–353.
22. Ki-67 immunostaining in 322 primary breast cancers: association with clinical and pathological variables and prognosis / *A. Molino, R. Micciolo, M. Turazza et al. // Int. J. Cancer.*— 1997.— Vol. 74.— P. 433–437.
23. *Moroy T., Geisen C., Cylcin E. // Int. J. Biochem. Cell Biol.*— 2004.— Vol.36, №8.— P. 1424–1439.
24. Cyclin E expression in breast cancer: predicting germline BRCA1 mutations, prognosis and response to treatment / *P.C. Chappius et al. // Ann. Oncol.*— 2005.— Vol. 16, № 5.— P. 735–742.
25. Clinicopathologic analysis of bcl-2 immunostaining in breast carcinoma / *D.W. Visscher et al. // Mod. Pathol.*— 1996.— Vol. 9.— P. 642–646.
26. bcl-2, p53, and response to tamoxifen in estrogen receptor-positive metastatic breast cancer: a Southwest Oncology Group study / *R.M. Elledge et al. // J. Clin. Oncol.*— 1997.— Vol. 15.— P. 1916–1922.
27. Prognostic value of bcl-2 expression in invasive breast cancer / *P. Hellemans et al. // Br. J. Cancer.*— 1995.— Vol. 72.— P. 354–360.
28. Transcriptional regulation of the estrogen-inducible pS2 breast cancer marker gene by the ERR family of orphan nuclear receptors / *D. Lu et al. // Cancer Res.*— 2001.— Vol. 61, № 18.— P. 6755–6761.
29. Immunohistochemical detection of pS<sub>2</sub> protein in paraffin sections of breast carcinoma tissue. Comparison with results of an immunoradiometry assay / *A. Ahr et al. // Pathology.*— 1995.— Vol. 16, № 4.— P. 278–284.
30. pS<sub>2</sub> is an independent prognostic factor for post-relapse survival in primary breast cancer / *R.L. Jansen et al. // Anticancer Res.*— 1998.— Vol. 18, № 1B.— P. 577–582.
31. Clinico-biological impact of pS<sub>2</sub> positivity in estrogen receptor negative-infiltrating ductal carcinomas of the breast / *A. Ruibal et al. // Rev. Esp. Med. Nucl.*— 2000.— Vol. 19, № 6.— P. 428–433.
32. Expression of pS<sub>2</sub> protein and estrogen and progesterone receptor status in breast cancer / *A. Ioakim-Liossi et al. // Acta Cytol.*— 1997.— Vol. 41, № 3.— P. 713–716.
33. *Wysocki S.J., Iacopetta B.J., Ingram D.M.* Prognostic significance of pS<sub>2</sub> mRNA in breast cancer // *Eur. J. Cancer.*— 1994.— Vol. 30A, № 12.— P.1882–1884.
34. Expression of pS<sub>2</sub> protein in breast cancer / *G. Crombach et al. // Arch. Gynecol. Obstet.*— 1993.— Vol. 253, № 4.— P. 183–192.
35. pS<sub>2</sub> protein: a marker improving prediction of response to neoadjuvant tamoxifen in post-menopausal breast cancer patients / *I. Soubeyran et al. // Br. J. Cancer.*— 1996.— Vol. 74, № 7.— P. 1120–1125.
36. Analysis of five-year course of the disease / *P. Surowiak et al. // Folia Histochem. Cytobiol.*— 2001.— Vol. 39, № 2.— P. 143–144.
37. *Pichon M.F., Milgrom E.* Clinical significance of the estrogen regulated pS<sub>2</sub> protein in mammary tumors // *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*— 1993.— Vol. 15, № 1.— P. 13–21.
38. Clinicopathological study of the expression of syndecan-1 in invasive breast carcinoma correlation with extracellular matrix components / *E. Tsanou et al. // J. Exp. Clin. Cancer Res.*— 2004.— Vol. 23, № 4.— P. 641–650.
39. Prognostic value of syndecan-1 expression in breast cancer / *M. Leivonen et al. // Oncology.*— 2004.— Vol. 67, № 1.— P. 11–18.
40. High syndecan-1 expression in breast carcinoma is related to an aggressive phenotype and to poorer prognosis / *M. Barbareschi et al. // Cancer.*— 2003.— Vol. 98, № 3.— P. 474–483.
41. Correlation of E-cadherin expression with clinicopathological parameters in breast carcinoma / *U. Cobanoglu et al. // Saudi Med. J.*— 2004.— Vol. 25, № 8.— P. 1024–1027.
42. E-cadherin expression in invasive non-lobular carcinoma of the breast and its prognostic significance / *E.A. Rakha et al. // Histopathology.*— 2005.— Vol. 46, № 6.— P. 685–693.

43. Expression of e-cadherin in high-risk breast cancer / E.M. Howard et al. // *J. Canc. Res. Clin. Oncol.*— 2005.— Vol. 131, № 1.— P. 14–18.
44. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) immunoreactive protein has modest prognostic value in locally advanced breast carcinoma patients treated with an adjuvant antiestrogen therapy / E. Rahko et al. // *Anticancer Res.*— 2004.— Vol. 24, № 6.— P. 4247–4253.
45. Prognostic value of matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) in patients with lymph node-negative breast carcinoma / H.C. Li et al. // *Breast Cancer Res. Treat.*— 2004.— Vol. 88, № 1.— P. 75–85.
46. Letrozole as a potent inhibitor of cell proliferation and expression of metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) by human epithelial breast cancer cells / T.N. Mitropoulou et al. // *Int. J. Cancer.*— 2003.— Vol. 104, № 2.— P. 155–160.

Поступила 21.04.2005

THE ROLE OF TISSUE MARKERS IN ASSESSMENT OF BIOLOGICAL PROPERTIES  
AND PROGNOSIS OF BREAST CANCER

I.S. Shponka, V.A. Bondareva, P.A. Gritsenko

S u m m a r y

Tissue markers which play a prognostic role in breast cancer (BC) determined with the use of immunohistochemical methods are reviewed. The authors conclude about the effect of the above markers as they can promote correction of therapeutic methods in BC.