

# ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ЭФФЕКТА НЕОАДЬЮВАНТНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ

**Д.А. Рябчиков, С.М. Портной, И.К. Воротников, Н.В. Чхиквадзе**

ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

*В статье представлен опыт использования показателей иммуногистохимических маркеров как прогнозирующих факторов эффективности предоперационной химиотерапии у больных с местнораспространенным раком молочной железы.*

**Ключевые слова:** маркер Pgp170, рак молочной железы, химиотерапия.

## THE ROLE OF IMMUNOHISTOCHEMICAL MARKERS AS PREDICTIVE FACTORS IN EFFECTIVENESS OF PREOPERATIVE CHEMOTHERAPY IN PATIENTS WITH LOCALLY ADVANCED BREAST CANCER

**D.F. Ryabchikov, S.M. Portnoy, I.K. Vorotnikov, N.V. Chkhikvadze**

Federal State Budgetary Institution — Russian Oncological Scientific Center named after N.N. Blokhin, Moscow

*Discussed the prognostic role of markers Pgp-170, Her2, Ki67 in patients with breast cancer.*

**Keywords:** Pgp170 marker, cancer of a mammary gland, chemotherapy.

В онкологической заболеваемости женщин в России РМЖ стойко занимает первое место: ежегодно в мире выявляется не менее 1,3 млн новых случаев рака молочной железы. Заболеваемость РМЖ в Европе составляет 50–105, а смертность — 20,6 случая на 100 тыс. женщин в год. В 2010 году в России диагностировано более 54 тыс. случаев РМЖ. Максимальные показатели зарегистрированы в Москве — 52,3 и Санкт-Петербурге — 48,1 на 100 тыс. женщин. К сожалению, среди заболевших женщин в России в 2008 году на долю РМЖ III и IV стадии приходилось 26,2% и 10,3% соответственно [1, 2]. Наиболее высокий процент летальности отмечается у пациентов с III и IV стадиями РМЖ, что делает проблему эффективности лечения этих больных крайне актуальной. Первым этапом лечения больных РМЖ с III стадией является неоадьювантное лечение, от результатов которого зависит эффективность лечения в целом. Основной проблемой лечения этой категории больных остается МЛУ, один из механизмов которой — нарушение функционирования Pgp170 — гликопротеина, выводя-

щего химиопрепараты из цитоплазмы опухолевых клеток. Появившиеся сообщения о возможности качественной оценки функциональной активности Pgp170 дают теоретическую возможность прогнозировать эффективность ХТ [4].

**Цель:** оценка показателей комплексного использования иммуногистохимических маркеров в качестве прогнозирования эффекта предоперационной ХТ у больных местнораспространенным РМЖ.

### Материалы и методы

Работа основана на анализе проспективных данных комплексного обследования 99 пациенток, страдающих РМЖ, наблюдавшихся и получавших лечение в отделениях Российского онкологического центра им. Н.Н. Блохина с 1999 по 2008 год (табл. 1).

Из 99 больных, находившихся под нашим наблюдением, 87 получили комбинированное или комплексное лечение, включавшее предоперационную ХТ, операцию, адьювантную терапию (12 больных из общего числа по настоящее время лечение не завершили по различным причинам). Иммуногистохимическим методом на срезах с парафиновых блоков опухолей определяли наличие рецепторов стероидных гормонов, экспрессию Her2, Ki67 и Pgp170.

*Список сокращений: ХТ — химиотерапия, РМЖ — рак молочной железы, МЛУ — множественная лекарственная устойчивость.*

Распределение больных РМЖ по системе TNM

Стадия	Число больных		Стадия	Число больных		TNM	Число больных				
	абс.	%		абс.	%		абс.	%			
II	15	15,2	IIa	6	40,0	T2N0M0	6	100			
			IIb	9	60,0	T2N1M0	7	77,8			
						T3N0M0	2	22,2			
III	84	84,8	IIIa	13	15,5	T1N2M0	1	7,9			
						T2N2M0	4	30,8			
						T3N1M0	3	23,1			
						T3N2M0	5	38,5			
			IIIb	56	66,7	IIIc	15	17,9	T4N0M0	9	16,1
									T4N1M0	34	60,7
									T4N2M0	13	23,2
									T3N3M0	3	20,0
						T4N3M0	12	80,0			

Рецепторный статус опухоли оценивали следующим образом: 0–50 Н-баллов — отрицательный, 51–100 — слабopоложительный, 101–200 — умеренно положительный, 201–300 — сильно положительный. Her2 и Pgr170 статус опухолей молочных желез оценивался от 0 до 3+. При этом гиперэкспрессией считается 3+. При выявлении экспрессии Ki67 в ядрах опухолевых клеток подсчитывали окрашенные клетки и оценивали результат в процентах. При окрашивании менее 25% опухолевых клеток пролиферативная активность считалась низкой, при экспрессии Ki67 более чем в 25% клеток опухоли пролиферативная активность считалась высокой. Среднее время наблюдения за больными составило 33,7±3,3 месяцев (от 3 до 106 месяцев, медиана — 20,6 месяца). Возраст пациенток — от 26 до 77 лет (средний возраст 50,8±1,0 лет, медиана — 53 года). Клиническая эффек-

тивность ХТ оценивалась после 2–6 курсов по градациям ВОЗ при солидных опухолях.

- Полный эффект — исчезновение всех поражений на срок не менее четырех недель.
- Частичный эффект — большее или равное 50% уменьшение всех или отдельных опухолей при отсутствии прогрессирования других очагов.
- Стабилизация (без изменений) — уменьшение менее чем на 50% или увеличение менее чем на 25% при отсутствии новых очагов поражения.
- Прогрессирование — увеличение размеров одной или более опухолей более чем на 25% либо появление новых очагов поражения.

Степень патоморфоза опухоли определялась по Г.А. Лавниковой (1976). Автор выделяет четыре степени патоморфоза: первая — структура опухоли сохранена, выявляется полиморфизм и дистрофия



Рис. 1. Распределение больных РМЖ в зависимости от морфологической оценки эффективности предоперационной ХТ

## Опухоли молочных желез

части клеток; вторая — очаговое изменение паренхимы опухоли; третья — структура опухоли резко нарушена за счет фиброзного замещения или обширного некроза, а также круглоклеточной инфильтрации; четвертая — полное исчезновение клеток паренхимы опухоли [3].

### Результаты

По результатам гистологического исследования удаленного на операции материала лечебный патоморфоз первой степени выявлен у 17(19,5%) больных, второй — у 28(32,2%), третьей — у 18(20,7%), четвертой — у 14(16,1%) пациенток. В 10(11,5%) случаях признаков лечебного патоморфоза не обнаружено (рис. 1). Таким образом, выраженный лечебный патоморфоз (3–4 степени) выявлен у 32(36,8%) больных. (Табл. 2)

Корреляционный анализ выявил значимую взаимосвязь данных показателей ( $r=0,57$ ,  $p<0,05$ ): чем больше выраженность лечебного патоморфоза, тем выше клиническая эффективность лечения, и наоборот, — при низкой эффективности лечения, выраженность лечебного патоморфоза небольшая (табл. 3). Однако случаи несовпадения клинической эффективности проводимого лечения со степенью выраженности патоморфоза могут свидетельствовать о гипо- или гипердиагностике при определении клинической эффективности неoadъювантной терапии.

Мы выявили факторы, влияющие на клиническую эффективность неoadъювантной терапии. Статистически значимы лишь различия в частоте стабилизации и объективного эффекта у больных с различным статусом Pgp170: при положительном статусе Pgp170 достоверно чаще регистрировали стабилизацию заболевания (41,7% против 17,7%,  $p=0,04$ ), при отрицательном Pgp170 — чаще был достигнут объективный эффект (82,4% против 54,2%,  $p=0,02$ ). (Табл. 4.)

Анализируя факторы, влияющие на частоту выраженного лечебного патоморфоза, мы выявили следующее: при положительных рецепторах эстрогенов достоверно реже регистрировали выраженный лечебный патоморфоз, чем при отрицательных рецепторах эстрогенов (23,7% против 45,6%,  $p=0,03$ ); при положительном статусе Pgp170 достоверно чаще регистрировали признаки отсутствия лечебного патоморфоза ( $p=0,04$ ) или патоморфоз первой степени ( $p=0,04$ ), что отразилось и на достоверно меньшей ( $p=0,005$ ) частоте выраженного лечебного патоморфоза, чем при отрицательном статусе Pgp170 (12,5% и 47,1% соответственно); при высокой пролиферативной активности Ki-67 достоверно чаще, чем при отрицательном, регистрировали патоморфоз четвертой степени (33,3% и 3,1% соответственно,  $p=0,004$ ) и выраженный патоморфоз (57,1% против 21,9%,  $p=0,01$ ). (Табл. 5.)

Таблица 2

### Клиническая эффективность химиотерапии

Клиническая эффективность химиотерапии	абс.	%
Полный эффект	11	12,6
Частичный эффект	54	62,1
Стабилизация	21	24,1
Прогрессирование	1	1,2
Всего	87	100,0

Таблица 3

### Клиническая эффективность и патоморфоз

Клиническая эффективность	Число больных	Нет патоморфоза		Патоморфоз 1 степени		Патоморфоз 2 степени		Патоморфоз 3 степени		Патоморфоз 4 степени	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
ПЭ	11	0	0	0	0	1	9,1	3	27,3	7	63,6
ЧЭ	54	3	5,6 <sup>+</sup>	10	18,5	21	38,9	13	24,1	7	12,9*
СТАБ	21	7	33,3*	6	28,6	6	28,6	2	9,5	0	0*
Прогр	1	0	0	1	100	0	0	0	0	0	0
Всего	87	10	11,5	17	19,5	28	32,2	18	20,7	14	16,1

\* Достоверные различия по сравнению с полным эффектом,  $p<0,05$ .

+ Достоверные различия по сравнению со стабилизацией,  $p<0,05$ .

Факторы, влияющие на клиническую эффективность неоадьювантной терапии

Фактор	Число больных	ПЭ		ЧЭ		СТАБ		Прогр		ОЭ		
		абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	
Морфологическая форма	Протоковый	57	7	12,3	37	64,9	13	22,8	—	—	44	77,2
	Дольковый	13	1	7,7	7	53,9	5	38,5	—	—	8	61,5
	Смешанный	7	2	28,6	3	42,9	2	28,6	—	—	5	71,4
	Редкие формы	10	1	10,0	7	70,0	1	10,0	1	10,0	8	80,0
Степень злокачественности	G1	9	2	22,2	6	66,7	1	11,1	—	—	8	88,9
	G2	47	5	10,6	30	63,8	12	25,5	—	—	35	74,5
	G3	20	3	15,0	9	45,0	7	35,0	1	5,0	12	60,0
	Gx	11	1	9,1	9	81,8	1	9,1	—	—	10	90,9
T	T1-2	16	2	12,5	8	50,0	5	31,3	1	6,3	10	62,5
	T3	12	2	16,7	8	66,7	2	16,7	—	—	10	83,3
	T4	59	7	11,9	38	64,4	14	23,7	—	—	45	76,3
N	N0	14	1	7,1	10	71,4	3	21,4	—	—	11	78,6
	N1	37	3	8,1	23	62,2	11	29,7	—	—	26	70,3
	N2	23	4	17,4	14	60,9	4	17,4	1	4,4	18	78,3
	N3	13	3	23,1	7	53,9	3	23,1	—	—	10	76,9
Стадия	2	13	2	15,4	7	53,9	4	30,8	—	—	9	69,2
	3	74	9	12,2	47	63,5	17	23,0	1	1,3	56	75,7
Возрастная группа	≤ 50 лет	37	6	16,2	23	62,2	7	18,6	1	2,7	29	78,4
	> 50 лет	50	5	10,0	31	62,0	14	28,0	—	—	36	72,0
Рецепторы эстрогенов	РЭ –	46	7	15,2	27	58,7	12	26,1	—	—	34	73,9
	РЭ +	38	2	5,3	26	68,4	9	23,7	1	2,6	28	73,7
	РЭ x	3	2	66,7	1	33,3	—	—	—	—	3	100
Рецепторы прогестерона	РП -	46	5	10,9	27	58,7	13	28,3	1	2,2	32	69,6
	РП +	36	4	11,1	25	69,4	7	19,4	—	—	29	80,6
	РП x	5	2	40,0	2	40,0	1	20,0	—	—	4	80,0
Her2/neu	Her2/neu –	63	9	14,3	38	60,3	15	23,8	1	1,6	47	74,6
	Her2/neu +	13	—	—	10	76,9	3	23,1	—	—	10	76,9
	Her2/neu x	11	2	18,2	6	54,5	3	27,3	—	—	8	72,7
Pgp170	Pgp170 –	34	6	17,7	22	64,7	6	17,7	—	—	28	82,4
	Pgp170 +	24	1	4,2	12	50,0	10	41,7	1	4,2	13	54,2
	Pgp170 x	29	4	13,8	20	69,0	5	17,2	—	—	24	82,8
Ki — 67	Ki — 67 –	32	2	6,3	19	59,4	11	34,4	—	—	21	65,6
	Ki — 67 +	21	5	23,8	11	52,4	5	23,8	—	—	16	76,2
	Ki — 67 x	34	4	11,8	24	70,6	5	14,7	1	2,9	28	82,4
Вид лечения	ХТ	73	10	13,7	45	61,6	18	24,7	—	—	55	75,3
	ХТ+ЛТ	14	1	7,1	9	64,3	3	21,4	1	7,1	10	71,4
Вид ХТ	Антрациклинсодержащая	71	10	14,1	45	63,4	15	21,1	1	1,4	55	77,5
	таксаны	4	1	25,0	2	50,0	1	25,0	—	—	3	75,0
	Антрациклинсодержащая + таксаны	12	—	—	7	58,3	5	41,7	—	—	7	58,3

Факторы, влияющие на патоморфоз

Фактор	Число боль- ных	Нет патоморфоза		Патоморфоз 1 степени		Патоморфоз 2 степени		Патоморфоз 3 степени		Патоморфоз 4 степени		Выраженный патоморфоз		
		абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%	
Морфоло- гическая форма	Протоковый	57	6	10,5	11	19,3	22	38,6	7	12,3	11	19,3	18	31,6
	Дольковый	13	3	23,1	2	15,4	3	23,1	4	30,8	1	7,7	5	38,5
	Смешанный	7	1	14,3	2	28,6	1	14,3	1	14,3	2	28,6	3	42,9
	Редкие формы	10	—	—	2	20,0	2	20,0	6	60,0	—	—	6	60,0
Степень злокачест- венности	G1	9	2	22,2	—	—	1	11,1	2	22,2	4	44,5	6	66,7
	G2	47	4	8,5	10	21,3	17	36,2	12	25,5	4	8,5	16	34,0
	G3	20	4	20,0	5	25,0	5	25,0	2	10,0	4	20,0	6	30,0
	Gx	11	—	—	2	18,2	5	45,4	2	18,2	2	18,2	4	36,4
T	T1-2	16	4	25,0	3	18,8	5	31,3	2	12,5	2	12,5	5	25,0
	T3	12	1	8,3	3	25,0	2	16,7	5	41,7	1	8,3	6	50,0
	T4	59	5	8,5	11	18,6	21	35,6	11	18,6	11	18,6	22	37,3
N	N0	14	4	28,6	3	21,4	5	35,8	1	7,1	1	7,1	2	14,2
	N1	37	4	10,8	7	18,9	16	43,2	6	16,2	4	10,8	10	27,0
	N2	23	1	4,4	4	17,4	4	17,4	10	43,5	4	17,4	14	60,9
	N3	13	1	7,7	3	23,1	3	23,1	1	7,7	5	38,5	6	46,2
Стадия	2	13	4	30,8	2	15,4	5	38,5	1	7,7	1	7,7	2	15,4
	3	74	6	8,1	15	20,3	23	31,1	17	23,0	13	17,5	30	40,5
Возраст- ная группа	≤ 50 лет	37	4	10,8	5	13,5	12	32,4	9	24,3	7	18,9	16	43,2
	> 50 лет	50	6	12,0	12	24,0	16	32,0	9	18,0	7	14,0	16	32,0
Рецепторы эстрогенов	РЭ –	46	5	10,9	8	17,4	12	26,1	11	23,9	10	21,7	21	45,6
	РЭ +	38	5	13,6	9	23,7	15	39,5	6	15,8	3	7,9	9	23,7
	РЭ x	3	—	—	—	—	1	33,3	1	33,3	1	33,3	2	66,7
Рецепторы прогес- терона	РП –	46	5	10,9	10	21,7	15	32,6	8	17,4	8	17,4	16	34,8
	РП +	36	5	13,9	6	16,7	12	33,3	8	22,2	5	13,9	13	36,1
	РП x	5	—	—	1	20,0	1	20,0	2	40,0	1	20,0	3	60,0
Her2/neu	Her2/neu –	63	9	14,3	10	15,9	21	33,3	14	22,2	9	14,3	23	36,5
	Her2/neu +	13	1	7,7	4	30,8	4	30,8	1	7,7	3	23,1	4	30,8
	Her2/neu x	11	—	—	3	27,3	3	27,3	3	27,3	2	18,1	5	45,4
Pgp170	Pgp170 –	34	3	8,8	2	5,9	13	38,2	9	26,5	7	20,6	16	47,1
	Pgp170 +	24	7	29,2	6	25,0	8	33,3	2	8,3	1	4,2	3	12,5
	Pgp170 x	29	0	0	9	31,0	7	24,1	7	24,1	6	20,7	13	44,8
Ki-67	Ki-67 –	32	7	21,9	6	18,8	12	37,5	6	18,8	1	3,1	7	21,9
	Ki-67 +	21	2	9,5	1	4,8	6	28,6	5	23,8	7	33,3	12	57,1
	Ki-67 x	34	1	2,9	10	29,4	10	29,4	7	20,6	6	17,7	13	38,2
Вид лечения	ХТ	73	10	13,7	15	20,6	24	32,9	13	17,8	11	15,1	24	32,9
	ХТ+ЛГТ	14	—	—	2	14,3	4	28,6	5	35,7	3	21,4	8	57,1
Вид ХТ	Антрациклинсодержащая	71	9	12,7	15	21,1	21	29,6	14	19,7	12	16,9	26	36,6
	Таксаны	4	1	25,0	—	—	1	25,0	1	25,0	1	25,0	2	50,0
	Антрациклинсодержащая + таксаны	12	0	0	2	16,7	6	50,0	3	25,0	1	8,3	4	33,3

**Обсуждение**

Неэффективная индукционная ХТ означает неэффективность лечения в целом. Прогнозирование эффекта предоперационной ХТ позволит отказаться от неэффективных вариантов лечения в пользу эффективных.

Одна из основных причин прогрессирования болезни — нечувствительность опухоли к химиотерапии независимо от комбинации применяемых лекарств. Основной механизм МЛУ — пониженное накопление препаратов в клетке, обусловленное активным выведением веществ в межклеточную среду. Такой транспорт осуществляется белком плазматической мембраны Р гликопротеином (Pgp), кодируемым геном MDR1 (multidrug resistance 1) [5, 6]. Аналогичный механизм резистентности опухоли к лечению отмечается также при гормонотерапии, в частности тамоксифеном. Экспрессия в опухолевых клетках Pgp может служить маркером снижения эффективности гормонотерапии [12].

Антрациклиновые антибиотики (адриамицин, даунорубин), винкалалоиды (винкристин, винбластин), таксаны (таксол, таксотер), митоксантрон, ингибиторы топоизомераз (этопозид) — вот неполный перечень групп противоопухолевых препаратов, устойчивость к которым обусловлена Pgp-опосредованным транспортом. Увеличение количества иРНК MDR1 и Pgp часто служит фактором устойчивости многих типов опухолей к лечению [7, 8].

Результаты, полученные в ходе экспериментов с перивитальными клеточными линиями, в дальнейшем

получили свое подтверждение в клинике. Del Vecchio S.D., и соавт. [9] обнаружили прямую корреляцию между содержанием Pgp в опухоли и скоростью выведения из нее Tc-99m MIBI у больных РМЖ. Аналогичную закономерность наблюдали Burak Z. и соавт. [10] при саркомах мягких тканей.

В исследовании Chintamani, Jai Parakash Singh с соавт. показана взаимосвязь между экспрессией Pgp и клиническим ответом опухоли на предоперационную химиотерапию.

Авторы получили значительную корреляцию между экспрессией Р-глико-протеида и клиническим эффектом: гиперэкспрессия Pgp170 была связана с плохим клиническим эффектом, тогда как ее отсутствие ассоциировалось с хорошим клиническим эффектом ( $p < 0,05$ ) [11].

Аналогичные данные были получены нами при гиперэкспрессии Pgp170, когда достоверно чаще регистрировали стабилизацию заболевания (41,7% против 17,7%,  $p = 0,04$ ) и достоверно чаще регистрировали признаки отсутствия патоморфоза ( $p = 0,04$ ) или патоморфоза первой степени ( $p = 0,04$ ). При отрицательном Pgp170 — чаще был достигнут объективный эффект (82,4% против 54,2%), а выраженный патоморфоз наблюдался в 47,1% против 21,9% ( $p = 0,01$ ).

**Выводы:** Таким образом, использование иммуногистохимического маркера Pgp170 в комплексе с традиционными иммуногистохимическими маркерами — достоверный предсказательный фактор эффективности предполагаемой химиотерапии.

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Аксель Е.М. Злокачественные образования молочной железы: Состояние онкологической помощи, заболеваемость и смертность // Маммология. 2006. № 1. С. 9–15.
2. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2005 г. // Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. 2010. Т. 21. № 2 (прил. 1).
3. Лавникова Г.А. Некоторые закономерности лучевого патоморфоза опухолей человека и их практическое использование // Вестник АМН СССР. 1976. № 6. С. 13–19.
4. Piwnicka-Worms D., Chiu M.L., Budding M., Kronauge J.F., Kramer R.A., Croop J.M. Functional imaging of multidrug-resistant P-glycoprotein with an organotechnetium complex. *Cancer Res.* 1993 Mar 1; 53(5): 977–84.
5. Chen C.C., Meadows B., Regis J., Kalafsky G., Fojo T., Carrasquillo Ja., Bates S.E. Detection of in vivo P-glycoprotein inhibition by PSC833 using 99mtechnetium-sestamibi. *Clin Cancer Res* 1997; 3: 545–552.
6. Dano K. Active outward transport of daunorubicin in resistant Ehrlich ascites tumor cells // *Biochim. Biophys. Acta.* 1973. Vol. 323. P. 466–483.
7. Arceci R.J. Clinical significance of P-glycoprotein in multidrug resistance malignancies // *Blood.* 1993. Vol. 81. P. 2215–2222.
8. Goldstein L.J., Galski H., Fojo A. et al. Expression of a multidrug resistance gene in human cancers // *J Natl Cancer Inst* 1989; 81: 116–124.
9. Del Vecchio S., Zannetti A., Aloj L., Salvatore M. MIBI as prognostic factor in breast cancer. *Q. J Nucl Med.* 2003. Mar; 47(1): 46–50.
10. Burak Z., Ersoy O., Moretti J.L., Erinc R., Ozcan Z., Dirlik A., Sabah D., Basdemir G. The role of 99mTc-MIBI scintigraphy in the assessment of MDR1 overexpression in patients with musculoskeletal sarcomas: comparison with therapy response. *Eur J Nucl Med.* 2001 Sep; 28(9): 1341–50.
11. Chintamani A., Jai Parakash Singh, Mahesh K. Mittal, Sunita Saxena, Anju Bansal, Ashima Bhatia and Pranjal Kulshreshtha. *World Journal of Surgical Oncology.* 2005, 3:61 doi: 10.1186/1477-7819-3-61.
12. Белки множественной резистентности Pgp, MRP и BCRP как маркеры снижения эффективности тамоксифена при лечении рака молочной железы. Опухоли женской репродуктивной системы. 1.11. С. 8–18.