

УДК: 616-091.8-074:618.19-006.04

## **МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕРЦЕПТ-СТАТУСА ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

Казакова А.А., Парфенюк В.А., Черепанова Е.А.,

Алтайский государственный медицинский университет (656038, г. Барнаул, пр-т Ленина, д. 40), e-mail: lady.sun.blood@yandex.ru)

Рак молочной железы занимает 1-е место среди онкологических заболеваний у женщин, а также является 2-й причиной смерти после сердечно-сосудистой патологии. В структуре онкологической заболеваемости женского населения в России рак молочной железы занимает 1-е место, что составило в 2010 г. 20,1 %. В настоящее время для выбора оптимальной лечебной тактики, выбора адекватного лекарственного лечения (антиэстрогены, антроциклиновые антибиотики, Герцептин) следует установить не только стадию рака, гистологический вариант и степень злокачественности, но и обязательно – фенотип.

При раке молочной железы наиболее важными прогностическими показателями являются пролиферативная активность, экспрессия эстрогенов и прогестеронов и, безусловно, экспрессия белка HER2. Последняя характеристика, по данным многих исследователей, не только позволяет оценить прогноз болезни, особенно при наличии метастазов в регионарных лимфатических узлах, но и, что особенно важно, включить в лечебный комплекс новый патогенетический препарат «Герцептин» (транструзумаб) – высокоэффективный препарат направленного действия.

Высокая эффективность Герцептина обусловлена не только иммуноопосредованной цитотоксичностью, но и непосредственным блокированием пролиферации, стимуляцией апоптоза, антиангиогенной активностью.

**Ключевые слова:** рак молочной железы, герцептин, иммуногистохимический метод исследования.

## **MOLECULAR STUDIES IN THE DEFINITION GERTSEPT-STATUS IN BREAST CANCER**

Parfenyuk V.A., Cherepanova E.A., Kazakova A.A.

Altai State Medical University (656038, Barnaul, Lenina, str., 40), e-mail: lady.sun.blood@yandex.ru

Breast cancer is the first mortality reason for women and it goes second after cardio-vascular diseases. In Russia breast cancer ratio accounted for 20,1% in 2010. Nowadays to choose the best treatment and adequate medicine (antiestrogens, antrocycle antibiotics, Herciptin) one should define both the cancer stage, cancer histology, tumor malignance and the phenotype.

The most important prognostic factors for the breast cancer are the following: proliferative activity, estrogen and progesterone expression and undoubtedly, protein HER 2 expression. According to many researchers, the latter feature helps to foresee the disease progress especially when there are metastases in regional lymph nodes. Moreover, it allows to employ the new pathogenic drug Herceptin (transtuzumab) in the treatment.

Its high efficiency is determined by immune-mediated cytotoxicity and immediate blockage of proliferation, apoptosis stimulation and anti-angiogenic activity.

**Key words:** breast cancer, Herciptine, immune-hystochemical research methods.

### **Введение**

Рак молочной железы занимает 1-е место среди онкологических заболеваний у женщин, а также является 2-й причиной смерти после сердечно-сосудистой патологии. В структуре онкологической заболеваемости женского населения в России рак молочной железы занимает 1-е место, что составило в 2010 г. 20,1 %.

Заболеваемость раком молочной железы с каждым годом неуклонно растет на 1–2 %, ежегодно в мире регистрируют более 1 млн. новых случаев, к 2020 г. число заболевших раком молочной железы составит 2 млн. новых случаев [7].

Хирургический метод – как в самостоятельном варианте, так и в комбинации с лучевой терапией, химио-, гормонотерапией, таргетной терапией – является основой лечения .

Для диагностики рака молочной железы применяют новые технологии, позволяющие выявлять заболевание на ранней стадии (цифровая маммография, магнитно-резонансная томография молочных желез с контрастированием, эластография). Следует отметить, что в России за последние 10 лет удельный вес I–II стадий рака молочной железы возрос на 10% [6].

Этиология и факторы риска.

Вопросы этиологии рака молочной железы в настоящее время исследованы недостаточно. В отличие от рака лёгкого или рака мочевого пузыря, ни один из канцерогенов окружающей среды не удаётся убедительно связать с провокацией рака молочной железы.

В ряде случаев рак молочной железы предстаёт как классическое наследственное заболевание. Наиболее выраженными генетическими факторами предрасположенности к раку молочной железы исследователи считают гены BRCA1 и BRCA2 [5].

Факторы риска развития рака молочной железы: отсутствие в анамнезе беременностей и родов; курение (особенно, если оно начато в юном возрасте); раннее менархе (до 12 лет); поздняя менопауза (после 55 лет); отягощенный семейный анамнез (онкозаболевания у кровных родственников); больные, леченные по поводу рака женских половых органов; травма молочной железы в анамнезе; ожирение; сахарный диабет; гипертоническая болезнь; злоупотребление алкоголем; употребление экзогенных гормонов – при непрерывном употреблении экзогенных гормонов с целью контрацепции или лечения – более 10 лет.

Симптомы рака молочной железы на ранних стадиях заболевания могут отсутствовать или характеризоваться появлением в молочной железе небольших малочувствительных подвижных масс. Рост опухоли сопровождается нарушением её подвижности, фиксацией, розоватыми или оранжевыми выделениями из соска [4].

Подтипы рака молочной железы.

В конце XX века наука позволила внести необходимые коррективы в такой важный критерий прогноза, как гистологический тип опухоли. Стала очевидна значимость стволовых клеток эпителия молочной железы в качестве важной мишени, подвергающейся локальному и системному воздействию уже с самых ранних этапов онкогенеза. Динамизм, присущий молочным железам в ходе беременности, лактации и инволюции, как полагают, имеет своим источником 3 клеточных линии, формируемых на базе стволовых клеток: 1) миоэпителиальные или базальные (наружные) клетки протоков и альвеол; 2) клетки люминальной (внутренней) выстилки протоков; 3) альвеолярные клетки, синтезирующие белки молока.

Стволовые клетки способны к самообновлению и под влиянием гормонов и стромально-эпителиальных взаимодействий могут активно размножаться, дифференцироваться во время

беременности особенно в период лактации (чем объясняют защитную/противоопухолевую роль вскармливания) и, напротив, подвергаться апоптозу при инволюции молочных желез.

Оказалось, что часть опухолей происходит из люминального эпителия, окружающего протоково-дольковую единицу, а часть – из базального, находящегося снаружи от люминального. Более того, в последующем была установлена взаимосвязь происхождения.

Другое достижение основывается на привлечении к анализу так называемого генетического «портретирования» (или профилирования) ткани маммарных карцином. При этом с помощью мiсroаgау-анализа комплементарной ДНК в опухолевом материале оценивали экспрессию нескольких тысяч биологически значимых генов, обработка которой привела к выделению нескольких наиболее типичных и различающихся между собой вариантов. Данные подтипы: люминальный А, люминальный В, трижды негативный (ТН) / базальноподобный, HER2 и 5-й – «неклассифицируемый». Наиболее благоприятный прогноз и высокие показатели выживаемости оказались при люминальном А подтипе рака молочной железы и чуть хуже при люминальном В (HER2-отрицательном). Агрессивное течение заболевания с быстрым развитием висцеральных метастазов и поражением головного мозга наблюдалось при HER2-сверхэкспрессирующем и ТН рака молочной железы [7].

Клиническое значение молекулярной диагностики рака молочной железы.

HER2 является трансмембранным белком относящимся группе EGFR, и, соответственно, проявляет тирозинкиназную активность. Амплификация гена и соответствующая ей гиперэкспрессия белка HER2 были обнаружены в разных опухолях, включая молочную железу [3]. Гиперэкспрессия HER2/neu в опухолевой клетке коррелирует с рядом неблагоприятных факторов прогноза, а именно: размером опухоли, высокой степенью злокачественности, уменьшением рецепторов эстрогена и прогестерона в опухоли. Для клинициста важно знать, что в результате гиперэкспрессии HER2/neu снижается эффективность химиотерапии и эндокринотерапии тамоксифеном и самое главное – уменьшается безрецидивная и общая выживаемость. Таким образом, взаимосвязь между гиперэкспрессией и/или амплификацией HER2/neu и плохим клиническим прогнозом дает основание рассматривать HER2, как важное звено патогенеза развития рака молочной железы, а также как новую и важную мишень терапии. В результате был синтезирован препарат с принципиально новым механизмом противоопухолевого действия – трастузумаб [Herceptin (Герцептин), Genentech, F. Hoffmann–La Roche] [8].

Герцептин – рекомбинантные гуманизированные анти-моноклональные антитела, которые высоко избирательно связываются с внеклеточным доменом рецептора HER2/neu. Показано, что при этом подавляется пролиферация опухолевых клеток человека, которые имеют гиперэкспрессию HER2/neu. Кроме прямого антипролиферативного действия, Герцептин

способен вызывать выраженную реакцию антитело–зависимой клеточной цитотоксичности, специфически направленную на опухолевые клетки, гиперэкспрессирующие HER2 [2].

HER2 статус рака молочной железы позволяет прогнозировать возможную эффективность лечения Герцептином. Данный препарат эффективен только при HER2 – позитивном раке молочной железы и бесполезен при HER2 – негативном. [1].

Идентификация адекватно окрашенных образцов

1. *Мембранное окрашивание.* Белок HER2 экспрессируется на поверхности клеточной мембраны нормальных и опухолевых клеток молочной железы и при иммуногистохимическом определении выявляется на уровне 3+ в 15-30% случаев инвазивного протокового рака молочной железы [3].

2. *Цитоплазматическое окрашивание.* Цитоплазматическое окрашивание в отсутствие мембранного указывает, что оно не связано с присутствием мРНК HER2 в клетках рака молочной железы. Наличие только лишь цитоплазматического окрашивания при раке молочной железы не считается клинически значимым.

Оценка типа и интенсивности окрашивания.

Препараты молочной железы должны быть исследованы на предмет обнаружения типа окрашивания и его интенсивности, включая определение полноты окрашивания клеточной мембраны. Окрашивание, которое полностью окружает контур клеточной мембраны, оценивается как 2+ или 3+. Частичное, неполное окрашивание мембраны должно быть оценено как 1+. Цитоплазматическое и/или ядерное окрашивание не является признаком, который расценивается как позитивное окрашивание [3].

При интерпретации пограничных случаев, в которых интенсивность окрашивания является пограничной между «1+» и «2+» или когда одновременно наблюдаются клетки с различным уровнем экспрессии, нужно оценивать промежуточный случай, сопоставляя его со случаями-эталоном однозначной окраски на 1+ и 2 (контрольные препараты).

Заключение.

Таким образом, для эффективного назначения Герцептина больным раком молочной железы необходимо определение герцепт-статуса опухоли иммуногистохимическим методом и применением методов *in situ* гибридизации при наличии статуса 2+. Использование этих методов требует соответствующего оснащения патологоанатомических отделений и обучения врачей-патологоанатомов методике проведения и оценке результатов исследования. Иммуногистохимическое определение герцепт-статуса возможно только в крупных сертифицированных онкологических учреждениях, а применение методов *in situ* гибридизации – только в региональных центрах.

## Список литературы

1. Герцептин – точечный удар по раку молочной железы [Электронный ресурс]. Режим доступа – [www.brainpower.ru/929/699](http://www.brainpower.ru/929/699) (дата обращения 17.10.15).
2. Ганьшина И.П. Гиперэкспрессия HER-2 и новые возможности терапии рака молочной железы [Электронный ресурс]. Режим доступа – [www.pharmateca.ru/ru/archive/article/6250](http://www.pharmateca.ru/ru/archive/article/6250) (дата обращения 05.10.2015).
3. Руководство по интерпретации HER2-статуса рака молочной железы и желудка иммуногистохимическим методом с использованием кроличьих моноклональных антител VENTANA HER2 (4B5) / Под ред. акад. РАМН, проф. Г.А. Франка, док.биол.наук Л.Э. Завалишиной. – 2011. – 31 с.
4. Маммология. Национальное руководство / Под ред. В. П. Харченко, Н. И. Рожковой. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. — 328 с.
5. Кулигина Е. Ш. Эпидемиологические и молекулярные аспекты рака молочной железы // Практическая онкология. – 2010. – Т. 11, № 4. – С. 203-216.
6. Пак Д.Д., Трошенков Е.А., Усов Ф.Н., Петровский Д.А. Современное состояние проблемы использования большого сальника в качестве аутотрансплантата при маммопластике у больных раком молочной железы // Онкохирургия. – 2012. – № 4. – С.63-69.
7. Пак Д.Д., Рассказова Е.А., Данилова Т.В. Подтипы рака молочной железы // Опухоли женской репродуктивной систем. –2012.– № 3-4. – С. 1-10.
8. Yarden Y, Sliwkowski M.X. Untangling the ErbB signaling network. Nature Reviews in // Molecular and Cellular Biology. – 2001. – Vol. – 2. – P. 127–137.