

Байжигитов А.Б., Талаева Ш.Ж.

ЭМЧЕК РАГЫ ИММУНОГИСТОХИМИКАЛЫК БЕЛГИЛҮҮ ПРОТЕИНДЕРДИН ПРОФИЛИ

Байжигитов А.Б., Талаева Ш.Ж.

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ ЭКСПРЕССИИ СПЕЦИФИЧЕСКИХ БЕЛКОВ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

A.B. Baidhigitov, Sh.G. Talaeva

IMMUNOHISTOCHEMISTRY EXPRESSION PROFILE OF SPECIFIC PROTEINS IN BREAST CANCER

УДК: 618.19-006.6:612.086

HER2 эмчек рагы менен атайын протеиндердин иммуногистохимиялык талдоонун натыйжалары көрсөтүлдү. Ал PTEN жана MUC4 протеиндердин гиперэкспрессиясы жакыр прогнозу болуп саналды.

***Негизги сөздөр:** эмчек рагы, иммуногистохимия, протеиндер.*

Приведены результаты иммуногистохимического анализа специфических белков при HER2 позитивном раке молочной железы. Показано, что гиперэкспрессия белков PTEN, MUC4 является фактором неблагоприятного прогноза.

***Ключевые слова:** рак молочной железы, иммуногистохимия, белки.*

There were presented results of immunohistochemical analysis of specific proteins in HER2 positive breast cancer. Overexpression of PTEN, MUC4 proteins is a poor prognostic factor.

***Key words:** breast cancer, immunohistochemistry, proteins.*

Введение. Рак молочной железы самое распространенное заболевание среди женщин во всем мире. Ежегодно в мире регистрируется около 1 млн. 200 тыс. больных, с впервые зарегистрированным случаем РМЖ [1]. Ежегодно заболеваемость растет. В большинстве неразвитых стран, смертность остается высокой из-за запущенности опухолевого процесса и издержек в системах здравоохранения [2].

РМЖ – это полиморфное, системное и гетерогенное заболевание со специфическими биологическими, молекулярными и патогистологическими характеристиками [3]. Эти параметры влияют на чувствительность к химиопрепаратам и окончательные результаты лечения. Отсутствие чувствительности и не восприимчивости является основным препятствием для успешного клинического применения большинства противоопухолевых препаратов, например трастузумаба, показавшего в последние годы высокую эффективность.

Существует несколько потенциальных механизмов резистентности опухолевых клеток к воздействию специфических препаратов. Во-первых, это гиперэкспрессия инсулиноподобного фактора роста-1 [4]. Во-вторых, это активация сигнального каскада фосфоинозитол-3-киназы (PI3K) как следствие частичной или полной утраты функции гомолога фосфатазы и тензина (PTEN) [5, 9]. И, в-третьих, это подавление связывания трастузумаба с экстрацеллюлярным доменом человеческого эпидермально-

сосудистого фактора роста (HER2) в присутствии мембрано-ассоциированного гликопротеина MUC4. Мембрано-ассоциированный гликопротеин муцин 4 (MUC4) может скрывать HER2, защищая его от эффективного связывания с трастузумабом. Как было показано, MUC4 прямо взаимодействует с HER2 [5]. Не многочисленные результаты предклинических исследований не исключают роль мутаций в гене HER2 (например, в 21-ом экзоне) в формировании резистентности к трастузумабу (p95HER2). Мембранно-связанная часть, известная как p95, могла бы действовать как генетически активированная киназа, обуславливающая резистентность к трастузумабу [7, 10]. Препринципально показано, что ингибиторы тирозинкиназы более эффективны при блокировании фосфорилирования p95 по сравнению с трастузумабом [8, 11].

Целью настоящего исследования является определение молекулярно-генетического профиля экспрессии специфических белков PTEN и MUC4 у больных с инвазивным РМЖ.

Материал и методы исследования. Материалом исследования явились 89 пациенток РМЖ, у которых при иммуногистохимическом (ИГХ) исследовании был обнаружен Her2 положительный статус. Исследование проведено с мая 2014 г. по апрель 2015 г. в Казахском НИИ онкологии и радиологии. Всем пациентам проводилась трепан-биопсия опухоли молочной железы, материал которой направлялся на ИГХ.

Критерии включения были: больные с патоморфологически установленным диагнозом инвазивного РМЖ, возраст > 18 лет, пациенты, которые подписали форму информированного согласия до начала выполнения любых действий, связанных с исследованием, ИГХ – Her 2+.

Иммуногистохимический анализ проводили на срезах с парафиновых блоков опухолей, предназначенных для стандартного морфологического исследования. Срезы ткани крепились на специальные предметные стекла с положительным электрическим зарядом (SuperFrostPlus, Bio-Optica (Menzel), Италия). Приготовленные парафиновые срезы высушивали при температуре 37°C в течение 12 часов. Перед процедурой окрашивания предметные стекла со срезами помещали в термостат (+56°C) на 30 минут. Парафиновые срезы депарафинировали и дегидратировали по стандартной методике (3 смены

Bio Clear и 3 смены Dehyol absolute по 10 минут). Демаскировку антигенов проводили в растворе целевого восстанавливающего буфера Dewaxing & Antigen Retrieval Buffer (100x Citrate Buffer, pH 6.0) и D&A, EDTA Buffer (100x) pH 8.0 с использованием водяной бани, при температуре 95-98°C, в течение 20 минут, затем стекла охлаждали при комнатной температуре в течение 15-20 минут, не вынимая срезы из контейнера с буфером.

Результаты исследования. Экспрессия белка PTEN была определена у всех пациентов, имеющих положительную экспрессию HER2, т.е. у 89 пациентов. Среди них было показано отсутствие экспрессии PTEN у 5 пациентов, что составляет 5,6% (95% ДИ 0,0% - 14,3%) от числа пациентов, которым проводилось определение экспрессии PTEN. Слабая экспрессия (снижение интенсивности по сравнению с нормальными эпителиальными клетками) наблюдалась у 13 пациентов, что составляет 14,6% (95% ДИ 7,9% - 23,3%) от числа пациентов, которым проводилось определение экспрессии PTEN. Положительная экспрессия была выявлена у 71 пациента, что составляет 79,8% (95% ДИ 73,0% - 88,5%) от числа пациентов, которым проводилось определение экспрессии PTEN (Таблица 1).

Таблица 1. Экспрессия белка PTEN

PTEN	Популяция		95% ДИ	
	FAS		Нижняя граница	Верхняя граница
	Кол-во	%		
0 [нет иммунореакции]	5	5,6	0,0	14,3
1 [слабая]	13	14,6	7,9	23,3
2 [положительная]	71	79,8	73,0	88,5
Общее	89	100,0	-	-

Определение экспрессии MUC4 также было проведено у всех HER2-позитивных пациентов (89 пациентов).

Отсутствие окрашивания или слабое окрашивание ($\leq 30\%$) было выявлено у 64 пациентов, что составляет 71,9% (95% ДИ 64,0% - 81,7%) от числа пациентов, которым проводилось определение экспрессии MUC4. Слабое или умеренное окрашивание (31 – 50%) было обнаружено у 15 пациентов, что составляет 16,9% (95% ДИ 9,0% - 26,6%) от числа пациентов, которым проводилось определение экспрессии MUC4. Умеренное окрашивание ($> 50\%$) встречалось у 8 пациентов, что составляет 9,0% (95% ДИ 1,1% - 18,7%) от числа пациентов, которым проводилось определение экспрессии MUC4. Интенсивное окрашивание большинства клеток было выявлено у 2 пациентов, что составляет 2,2% (95% ДИ 0,0% - 12,0%) от числа пациентов, которым проводилось определение экспрессии MUC4.

На основании этих данных негативный результат по MUC4 был выявлен у 79 пациентов, что составляет 88,8% (95% ДИ 80,3% - 94,5%) от числа пациентов, которым проводилось определение

экспрессии MUC4. Позитивный результат был обнаружен у 10 пациентов, что составляет 11,2% (95% ДИ 5,5% - 19,7%) от числа пациентов, которым проводилось определение экспрессии MUC4 (таб. 2).

Таблица 2. Экспрессия белка MUC4

Степень окрашивания / экспрессия	Популяция		95% ДИ	
	Кол-во	%	Нижняя граница	Верхняя граница
1 $\leq 30\%$ [без окрашивания или слабое окрашивание] - 0 баллов	64	71,9%	64,0	81,7
2 $> 50\%$ [умеренное окрашивание] - 2 балла	8	9,0%	1,1	18,7
3 31 – 50% [слабое или умеренное окрашивание] - 1 балл	15	16,9%	9,0	26,6
4 интенсивное окрашивание большинства клеток - 3 балла	2	2,2%	0,0	12,0
Общее	89	100,0%	-	-
Негативный результат	79	88,8%	80,3	94,5
Позитивный результат	10	11,2%	5,5	19,7
Общее	89	100,0%	-	-

Заключение. Полученные нами данные позволяют провести прогностическую оценку в лечении больных, инвазивным HER2 положительным РМЖ. Так, отсутствие экспрессии предполагает, что проведение химиотерапии является фактором благоприятного прогноза, способствующего лучшим результатам ответной реакции на химиотерапию и полного патологического ответа, выживаемости. Повышенная экспрессия специфических белков является неблагоприятным фактором прогноза.

Литература:

1. Аксель Е.М. Заболеваемость злокачественными новообразованиями населения России и стран СНГ в 2008 году //Вестник РОНЦ. 2010. - Т.21. - №2с. - С.52-86.
2. Аманов А.Т. Изучение индекса человеческого развития в Республике Казахстан //Наука, новые технологии и инновации Кыргызстана. 2015. № 3. С. 57-59.
3. Имянитов Е.Н. Молекулярный патогенез рака молочной железы //Материалы VIII Российского онкологического конгресса М., 2004. - С.65.
4. Casa A.J., Dearth R.K., Litzenger B.C. et al. The type I insulin-like growth factor receptor pathway: a key player in cancer therapeutic resistance. //Front Biosci. – 2008. – V. 13. – P. 3273–87.
5. Fabi A., Metro G., Di Benedetto A., et al. Clinical significance of PTEN and p-Akt co-expression in HER2-positive metastatic breast cancer patients treated with trastuzumab-based therapies. //Oncology. – 2010. – V.78. – P.141-149.
6. Allred D.C., Harvey J.M., Berardo M., Clark G.M. Prognostic and predictive factors in breast cancer by immunohistochemical analysis. //Mod Pathol. – 1998. – V.11. – P. 155– 168.
7. Dave B., Migliaccio I., Gutierrez M.C., et al. Loss of phosphatase and tensin homolog or phosphoinositol-3 kinase activation and response to trastuzumab or lapatinib in human epidermal growth factor receptor 2-overexpressing locally advanced breast cancers. //J Clin Oncol. – 2001. – V.29. – P.166-173.

8. Gori S., Sidoni A., Colozza M., et al. EGFR, pMAPK, pAkt and PTEN status by immunohistochemistry: Correlation with clinical outcome in HER2-positive metastatic breast cancer patients treated with trastuzumab. //Ann Oncol. – 2009. – V.20. – P.648-654.
9. Wang Y., Liu Y., Du Y., et al. The predictive role of phosphatase and tensin homolog (PTEN) loss, phosphoinositol-3 (PI3) kinase (PIK3CA) mutation, and PI3K pathway activation in sensitivity to trastuzumab in HER2-positive breast cancer: a meta-analysis. //Curr Med Res Opin. – 2013. – V. 29(6). – P.633-42.
10. Peake B.F., Nahta R. Resistance to HER2-targeted therapies: a potential role for FOXM1. //Breast Cancer Manag. – 2014. – V.3 (5). – P.423-431.
11. Perez E.A., Dueck A.C., McCullough A.E. et al. Impact of PTEN protein expression on benefit from adjuvant trastuzumab in early-stage human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer in the North Central Cancer Treatment Group N9831 trial // J Clin Oncol. – 2013. – V.10. – N.31(17). – P.2115-22.

Рецензент: к.м.н., доцент КРСУ Батырканова Г.К.
