

¹Київський міський клінічний онкологічний центр, Київ

²Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ

МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНІ ПРИНЦИПИ ІНДИВІДУАЛІЗАЦІЇ ЛІКУВАННЯ ХВОРИХ НА РАК ГРУДНОЇ ЗАЛОЗИ МОЛОДОГО ВІКУ



Л.М. Захарцева¹, О.Є. Лобанова²

Адреса: Захарцева Любов Михайлівна
03115, Київ, вул. Верховинна, 69
Тел.: 0 (44) 444-68-18
E-mail: lmz@list.ru

Визначені молекулярно-біологічні принципи індивідуалізації лікування хворих на рак грудної залози молодого віку. Використані методи дослідження: клінічний, гістологічний, імуногістохімічний (білки апоптозу, рівень експресії рецепторів стероїдних гормонів, проліферації Ki-67, епідермального фактору росту, маркери ангиогенезу, BRCA1, молекулярно-генетичний (мутації генів BRCA1/2 за допомогою PCR), статистичний метод. Встановлено, що високий проліферативний індекс, базально-подібний варіант раку, порушення апоптозу, ангиогенезу, а також часті мутації генів BRCA 1/2 викликають погіршення показників виживаності хворих молодого віку. Запропоновано молекулярно-біологічні принципи для визначення стратегії лікування хворих на рак грудної залози молодого віку.

ВСТУП

Рак грудної залози (РГЗ) найбільш розповсюджене онкологічне захворювання у жінок у багатьох економічно розвинених країнах світу, у тому числі в Україні. З року в рік відмічають зростання показника захворюваності, за останні 10 років в Україні він збільшився на 19,2%. РГЗ частіше виявляють у жінок передменопаузального і постменопаузального віку. В різних країнах світу серед хворих на РГЗ пацієнтки віком до 35 років становлять 3–7%, за даними в Україні – 3,4%. Показник захворюваності серед жінок молодого віку невисокий, але є тенденція до його підвищення і темпи зростання в 1,5 раза вищі, ніж у загальній групі. Показник смертності від РГЗ в Європі найвищий у групі хворих до 35 років. За останні 15 років, завдяки впровадженню нових методів лікування, виживаність хворих на РГЗ зростає, але у пацієнток молодше 35 років вона залишається нижчою, ніж в інших вікових групах. За літературними даними, 10-річна виживаність пацієнток середнього віку становить 73%, а молодого віку – 49% [1, 6, 8, 9, 16].

За даними Національного канцерреєстру України, рак у хворих віком молодше 35 років не відрізняється за стадіями від загальної групи. Останнім часом для прогнозування клінічного перебігу хвороби у пацієнток молодого віку більшість дослідників приділяє увагу молекулярно-біологічним особливостям пухлини, тому що вони відіграють велику роль в розумінні ступеня злоякісності

новоутворення. Як відомо, ключовим моментом ракової трансформації є ланцюг генетичних порушень, який призводить до неконтрольованого росту клітин, порушення апоптозу та втрати диференціації тканини.

На даний час відомо декілька показників, що впливають на клінічний перебіг РГЗ. Ці прогностичні показники широко використовують в практичній онкології для формування груп хворих низького, проміжного та високого ризику продовження хвороби. Згідно з Європейськими і Національними стандартами в лікуванні хворих на РГЗ застосовують різні підходи до оперативного лікування, різні схеми поліхіміотерапії (ПХТ) та опромінення залежно від прогностичних і провісних показників росту пухлини [2, 3]. Такі індивідуальні протоколи лікування дозволили підвищити показники виживаності в багатьох країнах світу на 10–15% і знизити кількість ускладнень після лікування. Стосовно хворих до 35 років в стандартах методи індивідуального підходу в лікуванні не вказані і ці хворі лікуються із застосуванням всіх методів лікування, в тому числі великої кількості курсів ПХТ. Але це не дозволило покращити показники виживаності в цій віковій групі. Слід зазначити, що РГЗ у хворих молодого віку – не тільки клінічна проблема. Кожна смерть хворої на РГЗ молодого віку – втрата потенційного життя, а також збільшення кількості сиріт. Не треба забувати про економічні втрати, тому що це жінки працездатного віку. Зростає рівень естетичних вимог

до наслідків протипухлинного лікування та якості життя після його завершення.

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ

У дослідження, проведене в Київському міському онкологічному центрі у 1997–2008 рр., включено 573 хворих на РГЗ, що були розподілені на групи: основна – 254 пацієнтки віком 18–35 років, контрольна – 319 хворих віком 36–83 років. Застосовані наступні методи дослідження: клінічний, гістологічний, імуногістохімічний (білки апоптозу, експресія рецепторів стероїдних гормонів, проліферації Ki-67, епідермального фактору росту, маркери ангиогенезу, BRCA1, молекулярно-генетичний (мутації генів BRCA1/2 за допомогою PCR), статистичний метод (визначення критеріїв Ст'юдента, Фішера і коефіцієнта кореляції, методу Каплана – Мейера, критеріїв Гехала – Уїлкоксона, Перо – Уїлкоксона, логрангового критерію). Кількість хворих, задіяних у різних методах дослідження: імуногістохімічний – всього 573 хворих. Матеріалом для дослідження була кров, а у 62 пацієнток – тканина пухлини з парафінового блоку.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Розподіл пацієнтів за стадіями РГЗ показав, що вони співпадають в досліджуваних групах і переважає стадія T1-2N0M0.

Більшість хворих отримали комплексне лікування, яке включало операцію, променеву терапію (ПТ) і ПХТ. Серед оперативних втручань переважала мастектомія, співвідношення різних видів оперативного лікування в досліджуваних групах співпадало. Близько 55% хворих основної і контрольної груп отримали ПТ в неoad'ювантному і ад'ювантному режимах.

ПХТ в основній групі застосовували більш широко, її отримали згідно з існуючими стандартами близько 77% хворих, а в контрольній групі – 48% пацієнтів. Більшість хворих, що увійшли до основної групи, отримали більше 4 курсів ПХТ.

У більшості хворих був інвазивний протоковий або дольковий рак, в одиноких випадках виявляли особливі гістологічні варіанти – медулярний, тубулярний, муцинозний. Базально-подібний рак (EP-, PP-, HER2/neu-, CK5/6+) в 3 рази частіше виявляли у хворих основної групи, що співпадає з даними останніх публікацій [4, 12, 13]. Відсоток G2 в порівнювальних групах співпадав, але у хворих віком до 35 років – частіше G3 (p<0,002), ці результати подібні до даних літератури [5, 11, 15].

У 49% пацієнток основної групи було визначено інвазію перитуморальних судин, що в 2,3 рази частіше, ніж у контрольній групі.

За результатом імуногістохімічного дослідження в основній групі експресія EP виявлена у 49%, PP у 45% хворих, а в контрольній групі ці показники стано-

вили відповідно 73 і 65%. Таким чином, у хворих молодого віку значно рідше і в меншій кількості клітин відмічають експресію EP і PP (p<0,001), що не відрізняється від літературних даних [7, 14].

Експресія HER1 і VEGFR-3 виявлена у 15% хворих основної групи, що в 2 рази вище, ніж у контрольній групі.

Експресія білка HER2/neu в групах значно не відрізнялась (17% – в основній, 20% – в контрольній). У разі сумнівної експресії білка HER2/neu було застосовано FISH-метод, який в 67% підтвердив ампліфікацію гена HER2 [10].

У клітинах РГЗ хворих основної групи була висока експресія білків апоптозу: p53, p21, Bag1, Mcl1, а також маркера проліферації Ki67. Але статистично істотна різниця між групами відмічена тільки за показниками p53, p63, Ki67 та білка BRCA1.

Між досліджуваними групами істотні відмінності було знайдено за показниками EP, PP, HER1, VEGFR, базально-подібний варіант раку, p53 і p63. Пухлини хворих молодого віку на 23% рідше мали експресію рецепторів стероїдних гормонів, а також у 2 рази частіше експресію білків VEGFR-3 і HER1, у 1,5 рази p53 і значно

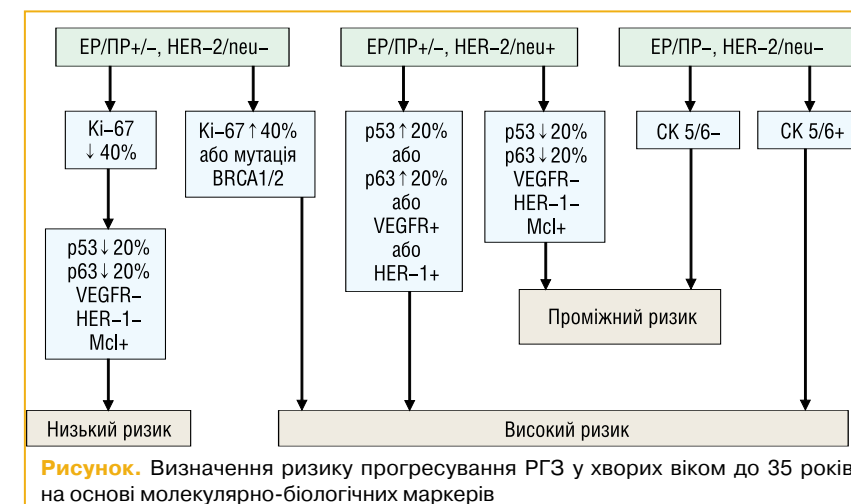
частіше високі показники експресії білка p63 і Ki67. Ця інформація свідчить про більш істотні порушення механізму апоптозу і проліферації в клітинах раку хворих віком до 35 років, що впливає на ступінь агресивності раку і терапевтичну відповідь.

Загальна 5-річна і безрецидивна виживаність у пацієнток основної групи була статистично істотно нижчою (p<0,001), ніж у контрольній групі.

На підставі результатів оцінки аналізу впливу кожного молекулярно-біологічного показника найбільше значення має експресія білків апоптозу p53, p63 і проліферації Ki67.

Було проведено аналіз загальної 5-річної виживаності у підгрупі базально-подібного РГЗ. На підставі результатів статистичного аналізу даних можна зробити висновок, що криві виживаності для пацієнток з базальноподібним РГЗ основної групи відрізняються, але ця різниця не є статистично істотною (p=0,071). Для пацієнток контрольної групи з базальноподібним РГЗ різниця у виживаності істотно нижча (p<0,001).

Мутації генів BRCA 1/2 виявлено у 17 хворих, з них 14 – у хворих молодого



Рисунк. Визначення ризику прогресування РГЗ у хворих віком до 35 років на основі молекулярно-біологічних маркерів

Таблиця Молекулярно-біологічні принципи в стратегії лікування хворих на РГЗ віком до 35 років

Категорія оцінки РГЗ	Лікування
Низький ризик EP/PP+/-, HER-2/neu-, Ki-67 ↓ 40%, p53/p63 ↓ 20%, VEGFR-, HER-1-, Mcl1+	Оперативне лікування, ГТ, ПТ (в залежності від об'єму операції)
Проміжний ризик EP/PP+/-, HER-2/neu+, Ki-67 ↓ 40%, p53/p63 ↓ 20%, VEGFR-, HER-1-, Mcl1+	Оперативне лікування, ПХТ, ГТ, ПТ (в залежності від об'єму операції)
Високий ризик EP/PP-, HER-2/neu-, CK5/6- EP/PP+/-, HER-2/neu-, Ki-67 ↑ 40% або мутація генів BRCA1/2	Оперативне лікування, ПХТ, ГТ, ПТ (в залежності від об'єму операції)
EP/PP+/-, HER-2/neu+ p53 ↑ 20% або p63 ↑ 20% або VEGFR+ або HER-1+ EP/PP-, HER-2/neu-, CK5/6+	Оперативне лікування, ПТ, ПХТ

ПХТ – поліхіміотерапія; ПТ – променева терапія; ГТ – гормонотерапія; ТТ – таргетна терапія.

Ключові слова: рак грудної залози, пацієнти молодого віку, молекулярно-біологічні принципи, індивідуалізація лікування.

віку. Криві виживаності для пацієнтів з мутаціями і без мутацій є статистично істотно відмінними ($p=0,002$). Можна констатувати, що виживаність пацієнтів з мутаціями є менш тривалою, ніж у пацієнтів без мутацій. Але в підгрупі хворих на базальноподібний варіант раку вплив мутації на виживаність не відмічено.

ВИСНОВКИ

Таким чином, високий проліферативний індекс, базальноподібний РГЗ, порушення апоптозу, ангиогенезу, а також часті мутації генів BRCA 1/2 значною мірою призводять до погіршення показників виживаності у хворих молодого віку.

На основі результатів статистичного аналізу морфологічних і молекулярно-біологічних показників РГЗ у хворих віком до 35 років розроблено критерії оцінки прогнозування клінічного перебігу захворювання і розподілу хворих молодого віку на групи ризику (рисунок)

За результатом розроблених критеріїв прогнозування клінічного перебігу захво-

рювання запропоновано стратегію лікування для пацієнок молодого віку (таблиця).

ЛІТЕРАТУРА

1. Федоренко З.П., Гулак Л.О., Горох Є.Л. та ін. (2008) Рак в Україні, 2006-2007 (захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби). Бюлетень Національного канцер-реєстру України, 9: 94.
2. Стандарти діагностики і лікування онкологічних хворих (2007) Затверджено наказом Міністерства охорони здоров'я України «Про затвердження протоколів надання медичної допомоги за спеціальністю «онкологія» від 17.09.2007 р. № 554. [Чинний від 17.09.2007]. Київ, СПД Морозов: 202.
3. Goldhirsch A., Wood W.C., Gelber R.D. et al. (2007) Senn 10th St. Gallen conference. Progress and promise: highlights of the international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2007. *Ann. Oncol.*, 18(7): 1133–44.
4. Musolino A., Bella M.A., Bortesi B. et al. (2007) BRCA mutations, molecular markers, and clinical variables in early-onset breast cancer: a population-based study. *Breast*, 16 (3): 280–292.
5. Sidoni A., Cavaliere A., Bellezza G. et al. (2003) Breast cancer in young women: clinicopathological features and biological specificity. *Breast*, № 12 (14): 247–50.
6. Brinton L.A., Sherman M.E., Carreon J.D. (2008) Recent trends in breast cancer among younger women in the United States. *JNCI. Brief Communications*, 100: 1643–1648.
7. Hartley M.C., McKinley B.P., Rogers E.A. et al. (2006) Differential expression of prognostic factors and effect on survival in young (<or =40) breast cancer patients; a case-control study. *Am. Surg.*, 72(12): 1189–94.

8. Althuis M.D., Dozier J.M., Anderson W.F. et al. (2005) Global trends in breast cancer incidence and mortality 1973–1997. *Int J Epidemiol.*, 34: 405–412.
9. Jayasinghe U., Taylor R., Boyades J. (2005) Is age at diagnosis an independent prognostic factor for survival following breast cancer? *ANZ Journal of Surgery*, 75(9): 762–767.
10. Klauber-DeMore N. (2005, 2006) Tumor biology of breast cancer in young women *Breast Disease*, 23(1): 9–15.
11. Lee W. (2002) Frequent loss of BRCA1 nuclear expression in young women with breast cancer: an immunohistochemical study from an area of low incidence but early onset. *Applied immunohistochemistry & Molecular Morphology*, 10(4): 310–315.
12. Marcus J.N., Watson P., Page L.D.L. et al. (1994) Pathology and heredity of breast cancer in younger women. *Journal of the National Cancer Institute Monographs*, 16: 23–34.
13. Rennert G., Bisland-Naggan SH., Barnett-Griess O. et al. (2007) Clinical outcomes of breast cancer in carriers of BRCA1 and BRCA2 mutations. *The new England journal of medicine*, 357(2): 115–123.
14. Satagopan J.M., Offit K., Foulkes W. et al. (2001) The lifetime risks of breast cancer in Ashkenazi Jewish carriers of BRCA1 and BRCA2 mutations. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 10: 467–73.
15. Colleoni M., Rotmensz N., Robertson C. et al. (2002) Very young women (<35 years) with operable breast cancer: features of disease at presentation. *Annals of Oncology* 2002 European Society for Medical Oncology, 13: 273–279.
16. De Ridder M., Vlastos G., Vinh-Hung V. et al. (2006) Young and old age are poor prognostic factors in women with advanced breast cancer. S. Aelbi, G. Storme. Abstract book 5th European Breast Cancer Conference. Nice, France. 21–25 March, abstract 298.

Молекулярно-біологічні принципи в індивідуалізації лікування больних раком грудної залози молодого віку

Л.М. Захарцева¹, О.Е. Лобанова²

¹Київський державний клінічний онкологічний центр, Київ

²Національний медичний університет імені А.А. Богомольця, Київ

Резюме. Цель исследования: определить молекулярно-биологические принципы индивидуализации лечения больных раком грудной железы молодого возраста. Методы исследования: клинический, гистологический, иммуногистохимический (белки апоптоза, экспрессия стероидных гормонов, пролиферация Ki-67, эпидермального фактора роста, маркеры ангиогенеза, BRCA1, молекулярно-генетический (мутации генов BRCA1/2 с помощью PCR), статистический метод. Результаты: определено, что высокий пролиферативный индекс, базальноподобный вариант рака, нарушение апоптоза, ангиогенеза, а также частые мутации генов BRCA1/2 вызывают ухудшение показателей выживаемости у больных молодого возраста. Выводы: предложены молекулярно-биологические принципы в стратегии лечения больных раком грудной железы молодого возраста.

Ключевые слова: рак грудной железы, пациенты молодого возраста, молекулярно-биологические принципы, индивидуализация лечения.

Molecular-biological principles in the individualization of breast cancer young patients treatment

L.Zakharceva¹, O.Lobanova²

¹Kyiv City Clinical Oncological Center, Kyiv

²A.A. Bohomolets National Medical University, Kyiv

Summary. Aim: to determine the molecular principles of individualized treatment of young patients with breast cancer. Methods: clinical, histological, immunohistochemical (apoptotic proteins, expression of steroid hormones, proliferation Ki-67, epidermal growth factor, angiogenesis markers, BRCA1, molecular-genetic (mutations of genes BRCA1/2 by using PCR), statistical method. Results: it was determined that a high proliferative index, basal-like variant of cancer, a violation of apoptosis, angiogenesis, and frequent mutations of the genes BRCA 1/2 lead to poor indicators of survival in young patients. Conclusion: we recommend to use molecular-biological principles in strategies breast cancer young patients treatment.

Key words: breast cancer, young patients, molecular principles, individualization of treatment.