

Т.Є. Тарасенко, Л.А. Сивак, Н.О. Верьовкіна, С.А. Лялькін, О.М. Мартинюк, Н.М. Майданевич, Н.В. Касап, О.Є. Човган

Прогнозування перебігу метастатичного люмінального (Her2/neu-негативного) раку грудної залози

Національний інститут раку, Київ

Одержано: 22.06.2020

Підписано до друку: 14.07.2020

DOI: 10.32471/clinicaloncology.2663-466X.37-1.27159

Класифікація раку грудної залози (РГЗ) базується не тільки на визначенні розміру первинної пухлини, ураженні лімфатичних вузлів, наявності віддалених метастазів, а й обов'язковим є проведення імуногістохімічного дослідження експресії рецепторів естрогену, прогестерону та епідермального фактора росту — Her2/neu, визначення експресії індексу проліферації пухлинних клітин Ki-67. У 75% пацієнтів РГЗ експресують рецептори естрогену та належать до люмінальних підтипів. Чутливість РГЗ до гормонотерапії залежить від наявності в пухлині рецепторів, здатних сприйняти гормональний сигнал та транслюкувати його в ядро. Імуногістохімічний статус пухлини, що рецидивує, може відрізнитися від результатів первинної біопсії. Актуальним дотепер є пошук неінвазивних маркерів прогнозування чутливості до гормонотерапії у хворих на метастатичний люмінальний РГЗ, у тому числі вивчення поліморфних варіантів гена *ESR1* (A-351G, T-397C). *Мета дослідження.* Підвищити ефективність гормонотерапії інгібіторами ароматази у хворих на метастатичний люмінальний Her2-негативний РГЗ на підставі вивчення поліморфних варіантів гена *ESR1* (A-351G, T-397C). *Об'єкт та методи дослідження.* Обстежено та проліковано 53 пацієнтки з метастатичним люмінальним Her2/neu-негативним РГЗ. У 1-й лінії хворі отримали гормонотерапію нестероїдними інгібіторами ароматази. Контроль динаміки процесу за допомогою комп'ютерної томографії проводили кожні 12 тиж лікування згідно з критеріями відповіді солідних пухлин на лікування (response evaluation criteria in solid tumors — RECIST 1.1). Сформовано 1-шу групу хворих (прогресування до 12 міс на фоні прийому інгібіторів ароматази) та 2-гу групу (прогресування після 12 міс прийому інгібіторів ароматази). У разі прогресування захворювання пацієнткам проводили забір крові для молекулярно-генетичного дослідження поліморфних варіантів A-351G (rs9340799) та T-397C (rs2234693) в 1 інtronі гена *ESR1*. *Результати дослідження* свідчать про доцільність визначення мутацій гена естрогенового рецептора (*ESR1*) у хворих на метастатичний люмінальний Her2/neu-негативний РГЗ для прогнозування перебігу захворювання та вибору персоналізованого лікування. *Висновки.* Встановлено, що ризик раннього прогресування захворювання відмічали у пацієнок з метастатичним люмінальним Her2/neu-негативним РГЗ з поліморфними генотипами *ESR1* A-351G та *ESR1* T-397C — $BP=2.81$ ($BI: 1,16 \leq BP \leq 6,82$ на рівні значимості $p=0,05$) та $BP=3,33$ ($BI: 1,00 \leq BP \leq 11,90$ на рівні значимості $p=0,05$).

Ключові слова: люмінальний рак грудної залози; гормонотерапія; поліморфізм гена естрогенового рецептора *ESR1* (A-351G та T-397C); прогнозування ефективності гормонотерапії.

ВСТУП

Рак грудної залози (РГЗ) залишається найпоширенішим онкологічним захворюванням у жінок всього світу. Міжнародне агентство з вивчення раку (International Agency for Research on Cancer — IARC) наводить дані про щорічне виявлення 1,4 млн нових випадків цієї онкопатології. В Україні, за даними Національного канцер-реєстру, у 2017 р. діагностовано 14 514 випадків РГЗ, з них у 10% пацієнтів відмічали первинно-метастатичний процес.

Сучасна клініко-патологічна класифікація РГЗ базується на визначенні розміру первинної пухлини (категорія T), ураженні лімфатичних вузлів (категорія N), ступені диференціації злоякісних клітин, наявності пухлинних емболів у судинах, периневральної інвазії. Обов'язковим є проведення імуногістохімічного дослідження експресії рецепторів естрогену (ER), прогестерону (PR) та епідермального фактора росту — Her2/neu [1].

Майже в 75% усіх випадків пухлинні клітини РГЗ мають ER та належать до люмінальних підтипів РГЗ. Відомо, що експресія ER клітиною пухлини є чи не єдиним тестом чутливості до гормональної терапії хворих на РГЗ, і саме кількісний вміст стероїдних рецепторів має прогностичне значення [2–3].

Дія естрогенів у клітинах реалізується завдяки їх зв'язуванню з одним з 2 специфічних рецепторів — α чи β , які є ліганд-залежними транскрипційними факторами і належать до суперродини ядерних рецепторів. Ці рецептори синтезуються, відповідно, генами — *ESR1* та *ESR2*. *ESR1* локалізується

на 6-й хромосомі. Поєднана експресія ER- α і ER- β на пухлинних клітинах визначається у більшості випадків РГЗ, проте, тільки підвищення експресії ER- α сприяє чутливості до гормональної терапії антиестрогенами та інгібіторами ароматази [4–5]. Вважається, що обидва рецептори на пухлинних клітинах РГЗ перебувають в антагоністичних відносинах: ER- α переважно стимулює клітинну проліферацію, а ER- β належить до супресорів клітинного поділу і втрата його експресії корелює з прогресуванням естрогенонезалежного РГЗ [6–7].

Чутливість пухлини до гормонів визначається збереженням у ній рецепторів, здатних сприйняти гормональний сигнал та транслюкувати його в ядро. Сигнальний естрогеновий шлях є прикладом складного біологічного процесу, який контролює безліч функцій, таких як проліферація клітин, апоптоз, інвазія та ангіогенез, що може використовуватися злоякісними клітинами для виживання. Класична функція ER — це його ядерна функція, чи по-іншому, — геномна активність. ER модулює експресію сотні генів, частина з яких стимулюється, а інша, навпаки, пригнічується. Після зв'язування з естрогеном ER димеризується з іншим мономерним рецептором, внаслідок чого приєднується комплекс коактиваторів та корепресорів до конкретних ділянок ДНК. ER також може зв'язуватися з іншими факторами транскрипції, такими як activator protein-1 (AP-1) і specificity protein-1 (SP-1) на своїх специфічних ділянках ДНК, тим самим функціонує як коактиватор. Сигнальний ER-шлях також регулюється мембранними рецепторними тирозинкіназами, включаючи рецептор епідермального фактора

росту (epidermal growth factor receptor — EGFR), Her2 та рецептор інсуліноподібного фактора росту (insulin-like growth factor 1 receptor — IGF1-R). Ці мембранні кінази активують сигнальні шляхи, що, зрештою, призводять до фосфорилування ER, а також його коактиваторів та косупресорів зі зміною їх специфічних функцій. Подібна активація ER є ліганд-незалежною [8].

Таким чином, у той час як рецепторні тирозинкінази можуть активувати транскрипційну функцію ER, вони також здатні зменшити естрогенову залежність шляхом пригнічення експресії ER, що, можливо, сприяє відносній нечутливості до гормонотерапії (ГТ) [9–10].

Виражена експресія ER, як правило, частіше спостерігається у жінок постменопаузального віку, супроводжується низьким рівнем проліферативної активності (Ki-67), високою чи помірною диференціацією пухлинної тканини, низькою частотою супутньої ампліфікації гена *Her2/neu*, наявністю PR, а при метастатичному процесі — більш повільним перебігом з ініціальним ураженням м'яких тканин та кісток [11–12].

Імуногістохімічне (ІГХ) дослідження наявності ER залишається й дотепер єдиним лабораторним критерієм визначення доцільності ГТ за необхідності її призначення в ад'ювантному режимі пацієнтам з люмінальним підтипом РГЗ. Згідно з рекомендаціями міжнародних настанов (European Society for Medical Oncology — ESMO, National Comprehensive Cancer Network — NCCN), виконується мультигенний тест гісто-препарату первинної пухлини грудної залози (OncotypeDx), результат якого свідчить про вірогідність розвитку рецидиву хвороби. Завдяки цьому аналізу деякі пацієнти можуть уникнути проведення післяопераційної хіміотерапії та її ускладнень. Деякі хворі, незважаючи на високий рівень ER, не відповідають на лікування ГТ.

Відомо, що ІГХ-статус рецидивуючої пухлини може відрізнитися від результатів первинного аналізу. За даними проведеного дослідження DESTINY (2012, Канада) з включенням 121 пацієнтки, рецепторна дискордантність була виявлена у 37,6% біопсійних матеріалів пацієнток з рецидивами РГЗ. При цьому закономірностей між зміною ER, PR чи *Her2/neu*-статусу в порівнянні первинних та метастатичних пухлин не виявлено. Проте проведення біопсії з ІГХ-дослідженням у пацієнтів з метастазуванням у легені, кістці чи печінку може бути ускладненим у зв'язку з дрібними вогнищами та недостатністю матеріалу чи високим ризиком ускладнень процедури. Тому актуальним є пошук неінвазивних маркерів прогнозування розвитку нечутливості до ГТ у хворих на метастатичний люмінальний РГЗ.

ГТ залишається пріоритетним методом лікування для первинно-метастатичного ER-позитивного РГЗ завдяки низькому профілю розвитку побічних явищ порівняно з хіміотерапією та тривалим контролем над захворюванням. Проте її ефективність лімітується високим рівнем виявлення резистентності *de novo* та на фоні лікування. Лише у близько 30% пацієнтів з первинно-метастатичним РГЗ відмічають регрес пухлини після ініціальної ендокринотерапії, а у 20% — стабілізацію хвороби.

Наразі розроблено нові комбінації лікування, спрямовані на блокування перехресних сигнальних шляхів, таких як mTOR та інгібування циклінових комплексів, які призводять до посиленої проліферації клітин [13–14]. Проте спроби підвищення ефективності стандартної ГТ першої лінії тривають. Так, методом молекулярно-генетичного аналізу пухлини у пацієнток з резистентністю до інгібіторів ароматази (ІА) виявлено набуті мутації у ER [15–22]. Для генів *ESR1/2* відомий ряд однонуклеотидних поліморфізмів, зокрема *ESR1 A-351G*, *ESR1 T-397C*, які здатні підвищувати транскрипцію цих генів [23–24]. Такий мутований рецептор збирає можливість взаємодії з тамоксифеном та фулвестрантом, тому зміна типу ендокринної терапії може супроводжуватися клінічним ефектом. Крім того, аналіз мутацій генів ER у циркулюючій

ДНК може виступати в ролі сурогатного тесту і тому вони потребують додаткового вивчення [25–26].

МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ

Підвищити ефективність гормонотерапії ІА у хворих на метастатичний люмінальний *Her2*-негативний РГЗ на підставі вивчення поліморфних варіантів гена *ESR1* (A-351G, T-397C).

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У 2017–2019 рр. у відділенні хіміотерапії солідних пухлин Національного інституту раку обстежено та проліковано 53 пацієнтки віком 29–76 років з метастатичним люмінальним *Her2/neu*-негативним РГЗ. Середній вік хворих становив 51,4 року. Більшість (65%) хворих перебували в періоді постменопаузи (їх середній вік — 60 років), у інших (35%) пацієнток менструальна функція була збережена до лікування (середній вік — 36,6 років), що потребувало застосування оваріальної абляції/супресії на фоні гормонотерапії.

Згідно зі стандартами, усім було проведено обстеження: мамографію, ультразвукове дослідження, ІГХ-дослідження трепанобіопсійного матеріалу, комп'ютерну томографію (КТ) органів грудної, черевної порожнини, малого таза з внутрішньовенним контрастуванням, остеосцинтиграфію. В усіх пацієнток не відмічали ознак вісцерального кризу, переважали кісткові метастази у 17 (32%) хворих, ураження лімфатичних вузлів — у 14 (26%), метастази у легені — у 11 (21%) та печінку — у 11 (21%) хворих. Імуногістохімічно підтверджений люмінальний підтип А РГЗ у 16 жінок, а люмінальний В — у 37. У дослідження не включали хворих з експресією епідермального фактора росту *Her2*.

У якості паліативного лікування усім пацієнткам було призначено 1-шу лінію гормонотерапії нестероїдними ІА — летрозол (2,5 мг) чи анастрозол (1 мг) щоденно. КТ-контроль динаміки процесу проводили кожні 12 тиж лікування згідно з критеріями RECIST 1.1. Сформовано 1-шу групу хворих (прогресування до 12 міс на фоні прийому ІА) та 2-гу групу (прогресування після 12 міс прийому ІА). У разі прогресування захворювання пацієнткам проводили забір аналізу крові для молекулярно-генетичного дослідження поліморфних варіантів A-351G (rs9340799) та T-397C (rs2234693) в 1 інtronі гена *ESR1* (виконували у ДЗ «Референс-центр з молекулярної діагностики МОЗ України», директор — кандидат медичних наук З.І. Россоха). Використовували модифіковані протоколи з олігонуклеотидними праймерами із застосуванням методу полімеразної ланцюгової реакції та наступним аналізом поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів. Досліджувану ділянку гена ампліфікували за допомогою специфічних праймерів («Metabion», Німеччина) із застосуванням комерційного набору DreamTaq Green PCR Master Mix («Thermo Scientific», США). Статистичну обробку матеріалу проводили з використанням пакета Medstatistica. Порівняння достовірності відмінностей середніх величин проводили з використанням t-критерію Стьюдента, кореляційний аналіз проводили з розрахунком коефіцієнта кореляції Пірсона (r). Достовірними вважали дані при $p < 0,05$.

ОТРИМАНІ РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Досліджували зв'язок результатів лікування з віком пацієнток. Виявлено, що у хворих віком до 50 років відмічали достовірно вищу загальну виживаність (3В) $28,16 \pm 5,25$, ніж у тих, у кого діагноз було встановлено у віці понад 50 років — $15,47 \pm 1,9$ ($p = 0,03$). Вірогідно, це пов'язано з частішими коморбідними станами у пацієнтів похилого віку, що може бути лімітуючим фактором у разі призначення більш агресивних підходів у лікуванні.

Незважаючи на варіабельність вікового фактора, анамнестично можливо припустити, що ризик розвитку більш агресивних люмінальних карцином (у тому числі з раннім прогресуванням на фоні ГТ) підвищується у жінок, які не мали

вагітностей (21% в основній групі проти 8,8% у контрольній; $p < 0,05$) чи мали більшу кількість штучного переривання вагітностей (57,8% у основній групі, 53% у контрольній групі; $p > 0,05$). У більшості хворих (77%) був обтяжений гінекологічний анамнез (ендометріоз, синдром полікістозних яєчників, гіперплазія ендометрію), проте без достовірної різниці між групами ($p > 0,05$).

Відомо, що до незалежних факторів ризику розвитку метастазування пухлин відносять розмір пухлин, ураження регіональних лімфатичних вузлів, судин, статус ER та епідермального фактора росту Her2. Проте характер віддаленого метастазування вивчено недостатньо. Припускають, що певна послідовність генів пов'язана з метастазуванням у кістки та легені, а також зв'язок з рецепторним статусом і підвищеним ризиком метастазування у певні органи [12].

Н. Кенпеске та співавтори визначили зв'язок молекулярних підтипів РГЗ з локалізацією метастазів та ефективністю лікування [27]. Так, для люмінальних типів відмічали низький ризик метастазування у головний мозок (2,2–4,7%), а Her2-позитивний та люмінальний Her2-позитивний РГЗ характеризувалися високою частотою уражень головного мозку, печінки, кісток та легень; базальноподібні пухлини часто метастазували в головний мозок (10,9%), легені (18,5%), кістки (16,6%), віддалені лімфатичні вузли (17,2%), а іноді — в печінку (9,3%). Метастазування у кістки при всіх типах РГЗ становило 30%, тобто ураження кісток було найчастішим проявом прогресування захворювання.

У нашому дослідженні пацієнток було розподілено на групи з вісцеральними метастазами (легені та печінка) та з невісцеральними метастазами (кістки, лімфатичні вузли, м'якотканинні вогнища, яєчники). За результатами дослідження виявлено достовірну різницю у виживаності без прогресування лише у хворих з метастазуванням у легені — $12,72 \pm 2,48$ проти $26,25 \pm 3,97$ без їх ураження ($p < 0,05$).

Цікаво, що значущої різниці у виживаності без прогресування в пацієнток з метастазами в печінку ми не виявили ($-20,12 \pm 3,6$ порівняно з $26 \pm 5,5$, $p > 0,05$). Загалом пацієнтки лише з невісцеральними метастазами мали тенденцію до кращої виживаності без прогресування порівняно з тими, у кого відмічали вісцеральні метастази ($12,38 \pm 3,1$ та $24,9 \pm 3,6$ відповідно, $p > 0,05$). За даними ІГХ, на всіх гістологічних зразках визначено ER, середнє значення яких становило $77,3 \pm 4,07\%$. У більшості пацієнток відмічали люмінальний В (Her2/neu) тип (70%), з позитивним ER та з низькою експресією PR чи з їх відсутністю (17% випадків). У середньому відсоток експресії PR становив $39,8 \pm 5,79\%$. Середнє значення Ki-67 складало $34 \pm 2,93\%$. Експресія ER була достовірно вищою за наявності експресії PR. Залежність експресії ER від PR виражалася наступною математичною моделлю (табл. 1) $ER = 62,95 + 0,36 PR$. Коефіцієнти рівняння були достовірні ($p < 0,001$), модель у цілому була адекватною ($F = 1,94$; $p < 0,001$).

Таблиця 1. Математична модель залежності між ER та PR за даними ІГХ-дослідження

Змінна	b	S _b	a	S _a	t _a	p _a
Вільний коефіцієнт			62,945	5,475	11,496	<0,001
PR	0,515	0,149	0,362	0,105	3,456	0,002

Загалом медіана часу до прогресування на фоні ГТ 1-ї лінії нестероїдними ІА становила 23,3 міс. Прогресування до 12 міс на фоні ГТ було визначено у 17 хворих та оцінено згідно з критеріями RECIST 1.1, а після 12 міс — у 36 хворих. Аналізуючи залежність медіани часу до прогресування за даними регресійного аналізу, вищі показники виживаності без прогресування виявлено у хворих з високими показниками експресії як ER ($p < 0,05$), так і PR ($p < 0,05$) (рис. 1, 2).

За оцінкою результатів КТ, відповідно до критеріїв RECIST 1.1, найкращою первинною відповіддю на лікування ІА було досягнення часткової регресії у 24 (45%) хворих або

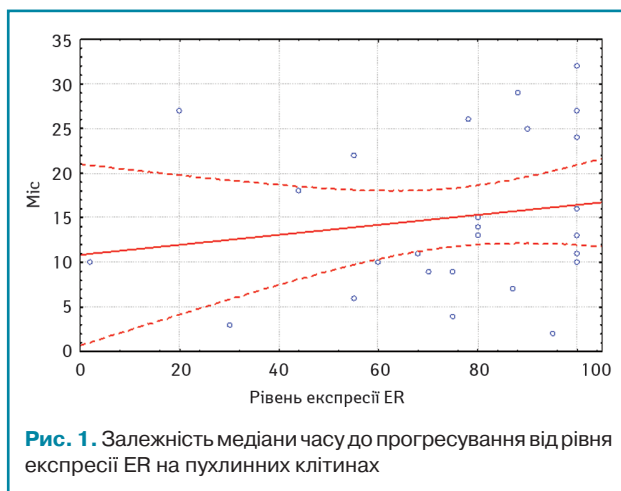


Рис. 1. Залежність медіани часу до прогресування від рівня експресії ER на пухлинних клітинах

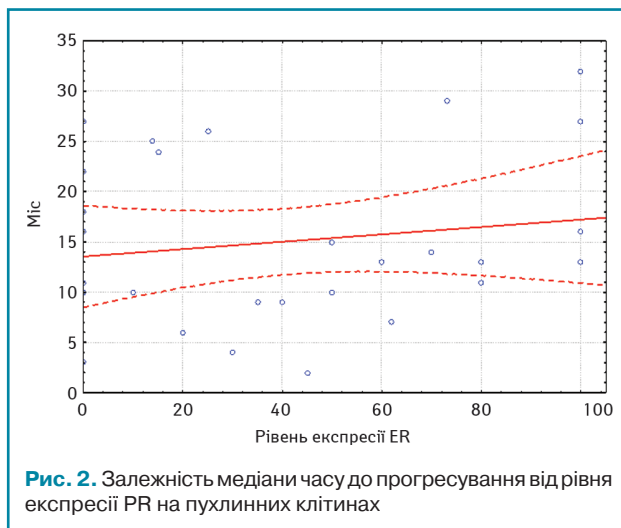


Рис. 2. Залежність медіани часу до прогресування від рівня експресії PR на пухлинних клітинах

стабілізації захворювання — у 16 (30%). Прогресування захворювання визначено у 13 (25%) пацієнток.

У групі хворих раннього прогресування захворювання зареєстровано більш високі значення експресії Ki-67, проте дані недостовірні ($p = 0,556$).

Аналіз розподілу генотипів ESR1 A-351G та ESR1 T-397C у 51,7 та 68,8% продемонстрував гетерозиготні варіанти у хворих на метастатичний люмінальний Her2/neu-негативний РГЗ 1-ї та 2-ї групи відповідно (табл. 2).

Оцінюючи взаємозв'язок між імуногістохімічними та генетичними даними, достовірної асоціації поліморфізму гена ESR1 (A-351G, T-397C) з ІГХ рецепторним статусом (ER і PR) та Ki-67 не виявлено ($p > 0,5$). Проте поліморфний варіант ESR1 A-351G частіше був сполучений з поліморфним варіантом ESR1 T-397C ($p = 0,0000515$) (табл. 3).

Отримані дані дають підстави припустити, що призначення ІА призводить до різкого зниження рівня циркулюючих естрогенів та пригнічення ER-опосередкованого сигнального каскаду. У разі селекції пухлинних клітин, що містять мутацію у гені ER, даний рецептор стає активним незалежно від зовнішніх сигналів.

Характер розподілу метастазів у хворих з гетерозиготним варіантом гена ESR1 був рівномірним та порівняним між групами (рис. 3).

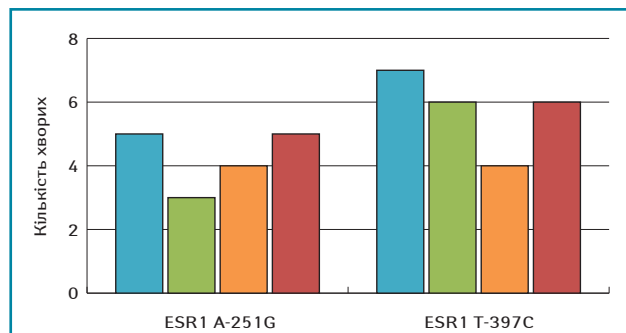
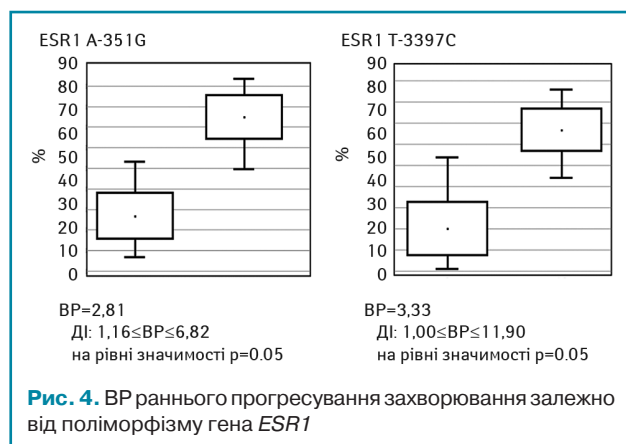
Встановлено, що наявність поліморфних генотипів ESR1 A-351G та ESR1 T-397C асоціювали з раннім прогресуванням захворювання (до 12 міс) — відповідно відносний ризик (BP)=2,81 (вірогідний інтервал (BI): $1,16 \leq BP \leq 6,82$ на рівні значимості $p = 0,05$) та BP=3,33 (BI: $1,00 \leq BP \leq 11,90$ на рівні значимості $p = 0,05$) (рис. 4).

Таблиця 2. Розподіл пацієнтів залежно від показника безрецидивної виживаності до 12 міс та поліморфізмів гена *ESR1*

Безрецидивна виживаність	ESR1 A-351G	ESR1 A-351G	ESR1 T-397C	ESR1 T-397C
	AA (n)	AG+GG (n)	TT (n)	TC+CC (n)
До 12 міс (основна група, n=19)	2	7	1	9
Більше 12 міс (контрольна група, n=34)	12	2	17	3

Таблиця 3. Розподіл пацієнтів залежно від варіантів поліморфізмів гена *ESR1*

Генотип	ESR1 T-397C			p
	AA	AG	GG	
ESR1 A-351G	AA	14	3	0,0000515
	AG	4	17	
	GG	4	2	

**Рис. 3.** Розподіл пацієнтів за локалізацією метастазів залежно від поліморфізму гена *ESR1***Рис. 4.** BP раннього прогресування захворювання залежно від поліморфізму гена *ESR1*

Таким чином, отримані нами результати підтверджують дані щодо доцільності вивчення мутацій гена *ESR1* у жінок на етапі планування ГТ, що може слугувати в якості додаткового інформативного маркера прогнозування ефективності ГТ ІА. Визначення статусу *ESR1* з урахуванням клініко-анамнестичного профілю хворої дозволить умотивовано й більш обґрунтовано підійти до вибору ендокринотерапії та персоналізувати лікування.

ВИСНОВКИ

1. Несприятливий прогноз захворювання частіше спостерігали у пацієнок віком понад 50 років ($p=0,03$) та жінок, які не мали вагітностей чи мали їх штучне переривання ($p<0,05$).
2. Досліджено, що найчастішим проявом метастазування у хворих на метастатичний люмінальний Her2/неу-негативний РГЗ було ураження кісток (32%). Достовірну різницю у виживаності без прогресування визначено лише у хворих з метастазами в легені ($12,72\pm 2,48$ порівняно з $26,25\pm 3,97$ без їх ураження). Кращу виживаність без прогресування відмічали у пацієнтки з невісцеральними метастазами порівняно з хворими з вісцеральними ($24,9\pm 3,6$ та $12,38\pm 3,1$ відповідно).
3. Визначено, що поліморфний варіант *ESR1* A-351G достовірно частіше асоціювався з поліморфним варіантом *ESR1* T-397C ($p=0,0000515$).

4. Встановлено, що ризик раннього прогресування захворювання відмічали у пацієнок з метастатичним люмінальним Her2/неу-негативним РГЗ з поліморфними генотипами *ESR1* A-351G та *ESR1* T-397C — $BP=2,81$ (BI: $1,16\leq BP<=6,82$ на рівні значимості $p=0,05$) та $BP=3,33$ (BI: $1,00\leq BP<=11,90$ на рівні значимості $p=0,05$).

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Cardoso, F., Kyriakides, S., Ohno, S., Penault-Llorca, F., Poortmans, P., Rubio, I.T., ... Senkus, E. (2019). Early Breast Cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Annals of Oncology*, 30, 1194–1220. doi: 10.1093/annonc/mdz173.
2. Nadji, M., Gomez-Fernandez, C., Ganjei-Azar, P., & Morales, A. R. (2005). Immunohistochemistry of estrogen and progesterone receptors reconsidered: experience with 5993 breast cancers. *American Journal of Clinical Pathology*, 123(1), 21–27. doi: 10.1309/4ww79n2ghj3x1841.
3. Bondarenko, I., Mohammad, H., Elhadj, A. V., Prokhach, V. F., & Zavizion, K. O. Chebanov (2016). Breast cancer. From molecular biology to personalized therapy. *Morphology*, 10(1), 18–25. doi: 10.26641/1997-9665.2016.1.18-25.
4. Gross, J.M., & Yee, D. (2002). How does the estrogen receptor work? *Breast Cancer Research*, 4, 62–64. doi: 10.1186/bcr424.
5. Levin, E.R. (2005). Integration of the extranuclear and nuclear actions of estrogen. *Molecular Endocrinology*, 19, 1951–1959. doi: 10.1210/me.2004-0390.
6. Mosselman, S., Polman, J., & Dijkema, R. (1996). ER beta: identification and characterization of a novel human estrogen receptor. *FEBS letters*, 392(1), 49–53. doi: 10.1016/0014-5793(96)00782-x.
7. Murphy, L. C., & Watson, P. H. (2006). Is estrogen receptor-beta a predictor of endocrine therapy responsiveness in human breast cancer? *Endocrine-related cancer*, 13(2), 327–334. doi: 10.1677/erc.1.01141.
8. AlFakheh, A., & Brezden-Masley, C. (2018). Overcoming endocrine resistance in hormone receptor-positive breast cancer. *Current Oncology*, 25(1): S18-S27. doi: 10.3747/co.25.3752.
9. Cardoso, F., Senkus, E., Costa, A., Papadopoulos, E., Aapro, M., Andre, F., ... Winer, E.P. (2018). Advanced Breast Cancer. 4th ESO-ESMO International Consensus Guidelines for. Retrieved from <https://www.esmo.org/content/download/181639/3308758/file/Clinical-Practice-Guidelines-Slideset-Advanced-Breast-Cancer.pdf>.
10. Osborne, C. K., & Schiff, R. (2011). Mechanisms of Endocrine Resistance in Breast Cancer. *Annual Review of Medicine*, 62(1), 233–247. doi:10.1146/annurev-med-070909-182917.
11. Roop, R. P., & Ma, C. X. (2012). Endocrine resistance in breast cancer: molecular pathways and rational development of targeted therapies. *Future Oncology*, 8(3), 273–292. doi: 10.2217/fon.12.8.
12. Пак, Д.Д., Расказова, Е. А., & Данилова, Т. В. (2012). Подтипы рака молочной железы. *Опухоли женской репродуктивной системы*, 3–4, 13–18.
13. Ignatiadis, M., & Sotiriou, C. (2013). Luminal breast cancer: from biology to treatment. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 10(9), 494–506. doi: 10.1038/nrclinonc.2013.124.
14. Augereau, P., Patsouris, A., Bourbouloux, E., Gourmelon, C., Lacourtois, S. A., Rigaud, D. B., ... Campon, M. (2017). Hormonoresistance in advanced breast cancer: a new revolution in endocrine therapy. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*, 9(5) 335–346. doi: 10.1177/1758834017693195.
15. Heeke, A. L., Pishvaian, M. J., Lynce, F., Xiu, J., Brody, J. R., Chen, W.J., ... Isaacs, C. (2018). Prevalence of Homologous Recombination-Related Gene Mutations Across Multiple Cancer Types. *JCO Precision Oncology*, 2018, 10. doi: 10.1200/PO.17.00286.
16. Toy, W., Shen, Y., Won, H., Green, B., Sakr, R.A., Will, M., ... Chandralapaty, S. (2013). ESR1 ligand-binding domain mutations in hormone-resistant breast cancer. *Nature Genetics*, 45, 1439–1445. doi: 10.1038/ng.2822.
17. Clatot, F., Augusto, L., & Di Fiore, F. (2017). ESR1 mutations in breast cancer. *Aging (Albany NY)*, 9(1), 3–4. doi: 10.18632/aging.101165.
18. Robinson, D. R., Wu, Y. M., Vats, P. Su, F., Lonigro, R. J., Cao, X., ... Chinnaiyan, A. M. (2013). Activating ESR1 mutations in hormone-resistant metastatic breast cancer. *Nature Genetics*, 45, 1446–1451. doi: 10.1038/ng.2823.
19. Jeselsohn, R., Yelensky, R., Buchwalter, G., Frampton, G., Meric-Bernstam, F., Gonzalez-Angulo, A. M., ... Miller, V.A. (2014). Emergence of constitutively active estrogen receptor- α mutations in pretreated advanced estrogen receptor-positive breast cancer. *Clinical Cancer Research*, 20, 1757–1767. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-2332.
20. Guttery, D. S., Page, K., Hills, A., Woodley, L., Marchese, S. D., Rghebi, B., ... Shaw, J.A. (2015). Noninvasive detection of activating estrogen receptor 1 (ESR1) mutations in estrogen receptor-positive metastatic breast cancer. *Clinical Chemistry*, 61(7), 974–982. doi: 10.1373/clinchem.2015.238717.
21. Schiavon, G., Hrebien, S., Garcia-Murillas, I., Cutts, R. J., Pearson, A., Tarazona, N., ... Turner, N. C. (2015). Analysis of ESR1 mutation in circulating tumor DNA demonstrates evolution during therapy for metastatic breast cancer. *Science Translational Medicine*, 7, 313–182. doi: 10.1126/scitranslmed.aac7551.
22. Takeshita, T., Yamamoto, Y., Yamamoto-Ibusuki, M., Inao, T., Sueta, A., Fujiwara, S., ... Iwase, H. (2015). Droplet digital polymerase chain reaction assay for screening of ESR1 mutations in 325 breast cancer specimens. *Translational Research*, 166, e2. doi: 10.1016/j.trsl.2015.09.003.
23. Палійчук, О.В., Поліщук Л.З., & Росоха, З.І. (2017). Можливості клінічного використання тестування на поліморфні варіанти генів *ESR1* та *CYP2D6* у хворих на рак грудної залози та ендометрія. *Здоров'я жінки*, 2(118), 132–138. doi: 10.15574/HW.2017.118.132.
24. Lee, Y.H., Kim, J. H. & Song, G.G. (2014). Genome-wide path way analysis of breast cancer. *Tumor Biology*, 35(8), 7699–7705. doi: 10.1007/s13277-014-2027-5.
25. Turner, N. C., Jiang, Y., O'Leary, B., Hrebien, S., Cristofanilli, M., Andre, F., ... Loi, S. (2016). Efficacy of palbociclib plus fulvestrant (P+F) in patients (pts) with metastatic breast cancer (MBC) and ESR1 mutations (mus) in circulating tumor DNA (ctDNA) *Journal of Clinical Oncology*, 34, 512. doi: 10.1200/JCO.2016.34.15_SUPPL.512.

26. Fribbens, C., O'Leary, B., Kilburn, L., Hrebien, S., Garcia-Murillas, I., Beaney, M., ... Turner, N. C. (2016). Plasma ESR1 Mutations and the Treatment of Estrogen Receptor-Positive Advanced Breast Cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 34, 2961–2968. doi: 10.1200/JCO.2016.67.3061.

27. Kennecke, H., Yerushalmi, R., & Woods, R. (2010). Metastatic behavior of breast cancer subtypes. *Journal of Clinical Oncology*, 28(20), 3271–3277. doi: 10.1200/JCO.2009.25.9820.

Прогнозирование течения метастатического люминального (Her2/неу-негативного) рака грудной железы

Т.Е. Тарасенко, Л.А. Сивак, Н.О. Вереvkина, С.А. Лялькин, Е.М. Мартынюк, Н.Н. Майданевич, Н.В. Касап, А.Е. Човган
Национальный институт рака, Киев

Резюме. Классификация рака грудной железы (РГЖ) базируется не только на определении размера первичной опухоли, поражения лимфатических узлов, наличия отдаленных метастазов, но и обязательным является проведение иммуногистохимического исследования экспрессии рецепторов эстрогена, прогестерона и эпидермального фактора роста — Her2/неу, определения экспрессии индекса пролиферации опухолевых клеток Ki-67. У 75% пациентов РГЖ экспрессируют рецепторы эстрогена и относятся к люминальному подтипу. Чувствительность РГЖ к гормонотерапии зависит от наличия в опухоли рецепторов, способных воспринять гормональный сигнал и транслоцировать его в ядро. Иммуногистохимический статус рецидивирующей опухоли может отличаться от результатов первичной биопсии. Актуальным до сих пор является поиск неинвазивных маркеров прогнозирования чувствительности к гормонотерапии у больных метастатическим люминальным РГЖ, в том числе изучение полиморфных вариантов гена *ESR1* (A-351G, T-397C). **Цель исследования.** Повысить эффективность гормонотерапии ингибиторами ароматазы у больных метастатическим люминальным Her2-отрицательным РГЖ на основании изучения полиморфных вариантов гена *ESR1* (A-351G, T-397C). **Объект и методы исследования.** Обследовано и пролечено 53 пациентки с метастатическим люминальным Her2/неу-негативным РГЖ. В 1-й линии больные получили гормонотерапию нестероидными ингибиторами ароматазы. Контроль динамики процесса с помощью компьютерной томографии проводили каждые 12 нед лечения в соответствии с критерием ответа солидных опухолей на лечение (response evaluation criteria in solid tumors — RECIST 1.1). Сформирована 1-я группа больных (прогрессирование до 12 мес на фоне приема ингибиторов ароматазы) и 2-я группа (прогрессирование после 12 мес приема ингибиторов ароматазы). В случае прогрессирования заболевания пациенткам проводили забор крови для молекулярно-генетического исследования полиморфных вариантов A-351G (rs9340799) и T-397C (rs2234693) в 1 интроне гена *ESR1*. **Результаты исследования** свидетельствуют о целесообразности определения мутаций гена эстрогеновых рецепторов (*ESR1*) у больных метастатическим люминальным Her2/неу-негативным РГЖ для прогнозирования течения заболевания и выбора персонализированного лечения. **Выводы.** Установлено, что риск раннего прогрессирования заболевания отмечали у пациенток с метастатическим люминальным Her2/неу-негативным РГЖ с полиморфными генотипами *ESR1* A-351G и *ESR1* T-397C — ОР=2,81 (ДИ: 1,16<=ОР<=6,82 на уровне значимости p=0,05) и ОР=3,33 (ДИ: 1,00<=ОР<=11,90 на уровне значимости p=0,05).

Ключевые слова: люминальный рак грудной железы; гормонотерапия; полиморфизм гена эстрогенового рецептора

ESR1 (A-351G и T-397C), прогнозирование эффективности гормонотерапии.

Prognostic factors of metastatic luminal (Her2/neu-negative) breast cancer

T. Tarasenko, L. Syvak, N. Verevkina, S. Lyalkin, O. Martyniuk, N. Maydanevich, N. Kasap, O. Chovhan
National Cancer Institute, Kyiv

Summary. Types of breast cancer are classified based not only the size of tumor, spread to the lymph nodes or other organs of the body, but it is necessary to assess immunohistochemical (IHC) breast cancer types according to the expression of estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), Ki-67 proliferative index, and human epidermal growth factor of receptor 2 (Her2). Approximately 75% of breast cancers are positive for estrogen receptor and, so they are termed the luminal group. Hormone-sensitive breast cancer is determined by receptors able of perceiving the hormonal signal and translating it into the nucleus. The immunohistochemical status of recurrent tumor can differ from the primary biopsy. The search of noninvasive factors (including of polymorphic *ESR1* (A-351G, T-397C) is relevant now for prognoses of hormone therapy in patients with metastatic luminal breast cancer. **The aim** of the study is to improve the effectiveness of hormone therapy with aromatase inhibitors in patients with metastatic luminal (Her2-negative) breast cancer based on the research of the *ESR1* gene (A-351G, T-397C) polymorphic variants. **The object and methods.** Treatment results of 53 patients with metastatic luminal Her2/neu-negative breast cancer, who have been receiving the first-line of endocrine therapy with nonsteroidal aromatase inhibitor. The treatment response assessed every 12 weeks according to RECIST 1.1. In a year of treatment all patients were divided into 2 groups depending on the progression of the disease (I group is the progression up to 12 months and II group is the progression after 12 months). In case of progression disease, we provided molecular genetic testing of *ESR1* in peripheral blood. *ESR1* (A-351G, T-397C) polymorphism was detected by analysis of DNA restriction fragment length polymorphism in 1 intron of *ESR1*. **The results** of the study indicate the feasibility of determining mutations in the estrogen receptor gene (*ESR1*) in patients with metastatic luminal (Her2/neu-negative) breast cancer to predict the prognoses of the disease and the choice of personalized treatment. **Conclusions.** It has been established that the presence of polymorphic genotypes *ESR1* A-351G (odds ratio (OR) 2.81 95% CI = 1.16–6.82, p=0,05) and *ESR1* T-397C (OR 3.33 95% CI = 1,00–11.90, p=0,05) was associated with early disease progression in patients with metastatic luminal (Her2/neu-negative) breast cancer.

Key words: luminal breast cancer; hormone therapy; polymorphisms in the estrogen receptor gene *ESR1* (A-351G and T-397C); predicting the effectiveness of hormone therapy.

Адреса:

Тарасенко Тетяна Євгенівна
03022 Київ, вул. Ломоносова, 33/43
Національний інститут раку,
E-mail: tarasenko28te@gmail.com

Correspondence:

Tarasenko Tetiana
33/43 Lomonosova str, Kyiv 03022.
National Cancer Institute
E-mail: tarasenko28te@gmail.com