

*М.Х. Ельхажж, І.М. Бондаренко, В.Ф. Завізіон, А.В. Куник, О.І. Асєєв,
М.В. Артеменко*

ВПЛИВ СИСТЕМНОГО ЛІКУВАННЯ НА ІМУНОФЕНОТИП РАКУ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

ДЗ «Дніпропетровська державна медична академія» МОЗ України, Україна

Реферат. Під час системного лікування нерідко спостерігається зміна фенотипу пухлини. Зміна імунофенотипу раку молочної залози в процесі лікування є вирішальною у виборі тактики подальшого ведення пацієнта та може впливати на вибір системної терапії. Ретроспективно проаналізовані історії хвороби 67 пацієнтів. У всіх випадках були проведені первинні та повторні імуногістохімічні дослідження пухлин. Паралельно досліджувався вплив ряду факторів, таких як отримані етапи лікування, анамнестичні дані пацієнтів, вірогідність зміни імунофенотипу раку молочної залози. Зміна фенотипу пухлини спостерігалася у 30 пацієнтів. Найбільш виражену тенденцію до змін має люмінальний В підтип пухлини. Також вірогідний вплив мають наявність променевої та таргетної терапії в анамнезі, ступінь диференціювання карциноми, місце отримання біопсії.

Ключові слова: рак молочної залози, лікування, імуногістохімічний фенотип пухлини

Рак молочної залози в структурі захворюваності та смертності від злоякісних захворювань у жінок в Україні, а також країнах Європи та Америки посідає перше місце [2, 5]. Статистичні дані останніх років свідчать про те, що у економічно розвинутих країнах щорічно спостерігається неухильне зростання захворюваності та смертності від раку цієї локалізації, за останні тридцять років частота випадків раку молочної залози збільшилась більш ніж на 20% [1].

У 2010 році захворюваність на рак молочної залози в Дніпропетровській області становила 42,4; у 2011 – 43,0 випадки на 100 тис населення, що вдвічі більше за світові показники. Смертність від раку молочної залози в 2010 році становила 20,0 на 100 тис., у 2011 – 19,7 на 100 тис населення [6].

Клінічні спостереження останніх років свідчать про те, що під час системного лікування нерідко спостерігається зміна імунофенотипу пухлини. Це є вирішальними у виборі тактики подальшого ведення пацієнта та може впливати на вибір варіантів системної терапії. Вивчення частоти та особливостей конверсії біологічної агресивності пухлини в процесі розвитку та лікування відповідатиме новітнім стандартам індивідуалізації лікування хворих та впливатиме на тактику лікування і прогноз [3, 4].

Саме тому метою нашої роботи стало вивчення частоти змін імунофенотипу раку молочної залози в процесі лікування та метастазування, дослідження залежності між виявленими змінами, методами впливу на пухлину та особливостями захворювання.

Матеріал та методи

Ретроспективно проаналізовані історії хвороби 67 пацієнтів з раком молочної залози. У всіх

67 випадках були проведені первинні та повторні імуногістохімічні дослідження пухлин. Усі хворі – жінки у віці від 29 до 73 років на момент перших анамнестичних проявів хвороби. Середній вік склав $52 \pm 11,26$ роки.

Усім хворим в процесі обстеження, лікування та подальшого спостереження проводилися дослідження розповсюдженості пухлини за допомогою ультразвукової діагностики, рентгенологічного контролю, комп'ютерної томографії та остеосцинтиграфії.

Вивчалися показники: динаміка імуногістохімічного статусу в процесі лікування, зміна гістогенетичних показників при повторному імуногістохімічному дослідженні, методи впливу на пухлину (наявність хіміотерапії, гормонотерапії, таргетного та променевого лікування, хірургічного втручання в анамнезі) в період між повторними дослідженнями, інтервал між імуногістохімічними дослідженнями, особливості проведення повторних біопсій.

Імуногістохімічне дослідження проводилося за стандартною методикою з використанням реактивів компанії DAKO.

Оскільки наше дослідження мало здебільшого ретроспективний характер, у більшості пацієнтів не був визначеним повний набір маркерів обов'язковий для молекулярно-гістогенетиної класифікації раку молочної залози 2011 року редакції (зокрема, рівень Ki-67), для групування пацієнтів за імунофенотипом ми користувалися класифікацією 2005 року редакції.

Використані стандартні методи статистичної обробки інформації, зокрема непараметричні критерії Мана-Уїтні.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою стандартного пакету програм Microsoft Excel для Windows.

Результати та обговорення
63 пацієнтки (94,03%) отримали лікування, у 4 пацієнток лікування не було. В усіх 63 випадках хворі отримували хіміотерапію. У 9 пацієнток (13,43%) в етапи лікування входила гормонотерапія, у 3 (4,48%) – таргетна терапія герцептином, у 6 (8,96%) – променева терапія. 65 пацієнток (97%) мали в анамнезі хірургічне лікування.

В 49 випадках визначався протоковий тип раку (73,12%), в 14 випадках – протоково-часточковий тип (20,9%), в 4 пацієнток гістологічний тип пухлини був невизначений або був іншого типу (аденокарцинома та ін.).

36 хворих (53,73%) знаходилися в менопаузі, 29 (43,28%) пацієнток були в репродуктивному

Таблиця. Вплив прогностичних факторів на зміни імунофенотипу раку молочної залози в процесі лікування та прогресії пухлин

Прогностичний фактор	Значення критерію кореляції Мана-Уїтні		
	Загальна група	Первинний рак молочної залози	Рецидивний рак молочної залози
Первинний статус естрогенових рецепторів	0,003*	0,030*	0,078*
Первинний статус прогестеронових рецепторів	Не розраховувався	0,027*	0,058*
Первинний імунофенотип пухлини	0,004*	0,071*	0,020*
Таргетна терапія в анамнезі	0,111*	1,000	0,145
Променева терапія в анамнезі	0,050*	0,180	0,398
Репродуктивний статус	0,055*	0,064*	0,418
Ступінь диференціювання пухлини	0,050*	0,534	0,041*
Місце отримання біоптату	0,089*	0,194	0,493
Інтервал часу між імуногістохімічним дослідженням	0,174	Не розраховувався	Не розраховувався
Тип захворювання (первинний чи рецидивний рак молочної залози)	0,158	-	-
Вік	0,707	0,529	0,577
Наявність лікування в анамнезі	0,419	0,600	1,000
Наявність хіміотерапії в анамнезі	0,422	0,642	1,000
Наявність гормонотерапії в анамнезі	0,444	1,000	0,016*
Наявність хірургічного лікування в анамнезі	0,853	1,000	0,789
Гістологічний тип пухлини	0,729	0,082*	0,132
Ступінь терапевтичного пошкодження пухлини	0,630	0,682	0,646
Критерій T	0,435	0,733	0,286
Критерій N	0,681	0,596	0,332
Критерій M	0,534	0,835	0,468
Стадія захворювання	0,736	0,710	0,950

Примітка: * - значення вірогідне ($p \leq 0,005$)

періоді, у 2 жінок (2,99%) репродуктивний статус не був з'ясований.

Молекулярні типи раку молочної залози були представлені таким чином: 32 хворі первинно мали люмінальний А підтип раку, у 17 жінок визначався люмінальний В підтип, у 7 випадках мала місце потрійно негативна карцинома та в 9 клінічних спостереженнях була гіперекспресія епідермального фактору росту.

На момент первинної діагностики раку першу стадію мали 4 (5,97%) хворих, другу – 35 (52,24%), третю – 11 (16,42%), четверту – 14 (20,9%), у 3 випадках стадія була невідома (4,47%).

З врахуванням анамнезу та проведеного лікування були сформовані 2 групи досліджуваних.

Перша група (43 хворих) – пацієнти з первинним раком молочної залози, які отримали передопераційне системне лікування (у тому числі неoad'ювантне) стандартними методами з застосуванням хіміотерапії чи/та гормонотерапії та в подальшому були прооперовані. Повторні імуногістохімічні дослідження проводилися на післяопераційному матеріалі.

У другу групу (24 хворих) увійшли пацієнти з рецидивним раком молочної залози. Попереднє імуногістохімічне дослідження проводилося на етапі первинного лікування, здебільшого з пухлини молочної залози. При констатації рецидиву досліджувався матеріал з метастатичних вогнищ.

У групі пацієнтів з первинним раком молочної залози при першому дослідженні було виявлено 22 випадки люмінального А раку, 11 випадків люмінального В, 6 потрійно негативних та 4 випадки Her2/neu позитивних пухлин.

У підгрупі пацієнтів з рецидивним раком молочної залози первинно були виявлені 10 випадків люмінального А раку, 7 пухлин люмінального В типу, 1 хвора мала потрійно негативну та 5 – Her2/neu позитивні карциноми. В одному випадку молекулярний підтип не був визначений через неповне значення діагностичних маркерів.

У 30 пацієток (44,78%) визначалися зміни імуногістохімічного статусу.

Первинно люмінальний А підтип раку був виявлений у 32 хворих, в процесі лікування в 1 спостереженні він змінився на люмінальний В підтип, в 5 випадках ми встановили повну втрату експресії стероїдних рецепторів (зміна на потрійно негативний рак), в 2 клінічних випадках – втрату рецепторів естрогену та прогестерону і появу рецепторів епідермального фактору росту (Her2/neu позитивний молекулярний тип).

Люмінальний В підтип пухлини на етапі первинної діагностики був встановлений у 17 жінок з раком молочної залози. При повторному дослідженні у 8 хворих виявили втрату рецепторів Her2/neu (конверсія в люмінальний А підтип) та у 2 випадках – втрату стероїдних рецепторів (конверсія в Her2/neu позитивний рак).

Для хворих з потрійно негативним типом раку (7 жінок) тенденції були такі: в 2 спостереженнях мала місце конверсія в люмінальний А підтип та в 1 – в люмінальний В.

Серед жінок, що первинно мали Her2/neu позитивний молекулярний тип пухлини (9 хво-

рих), ми зареєстрували 3 випадки втрати рецепторів епідермального фактору росту та появу стероїдних рецепторів (люмінальний А підтип), у 2 випадках – перехід в люмінальний В підтип та в одному спостереженні зміну на потрійно негативний рак.

Таким чином, якщо при первинному імуногістохімічному дослідженні було виявлено 32 випадки люмінального А підтипу раку молочної залози, то при повторному визначенні спостерігалось 36 хворих з люмінальним А підтипом, тобто кількість люмінальних А карцином збільшилась на 4.

Люмінальний В підтип первинно виявлявся у 17 хворих, вторинно – у 12, тобто на 5 випадків менше. Ці дані статистично вірогідні, тому ми можемо говорити про тенденцію до зменшення кількості випадків люмінального В підтипу в результаті лікування.

Потрійно негативний рак молочної залози первинно визначався у 7 хворих, надалі – у 9, тобто на 2 випадки більше.

Her2/neu позитивний підтип спостерігався на етапі діагностики захворювання у 9 хворих, після повторного дослідження – у 8, тобто на 1 випадок менше.

У результаті ретельного аналізу за допомогою методів математичної статистики ми виявили ряд факторів (табл. 1), що впливають на зміну імунофенотипу раку молочної залози в процесі лікування. Через невелику кількість хворих в групі спостереження, ми називаємо ці кореляційні тенденції. Досліджено такі фактори: первинний тип пухлини; первинні значення стероїдних рецепторів; репродуктивний статус жінки на момент виявлення хвороби; ступінь диференціювання пухлини; місце отримання біоптату; період між проведенням імуногістохімічних досліджень; тип захворювання (первинний чи рецидивний рак молочної залози); вік; наявність хіміотерапії, гормонотерапії, таргетної терапії чи променевого лікування, оперативного втручання в анамнезі; гістологічний тип пухлини; ступінь терапевтичного ушкодження пухлини; критерії TNM; стадія захворювання.

З використаних критеріїв кореляції ми взяли за базовий критерій Мана-Уїтні, вірогідним вважали його значення менш ніж 0,1.

Первинний фенотип пухлини (значення критерію Мана-Уїтні 0,004) має вірогідний вплив на можливість дискордантності імунофенотипу раку при повторному імуногістохімічному дослідженні.

Статистично вірогідною є тенденція до зміни фенотипу пухлини у хворих, що первинно мають люмінальний В підтип раку молочної залози.

Також доведений вплив на динаміку імунофенотипу має первинний статус естрогенових рецепторів новоутворення. Спостерігається тенденція до втрати рецепторів, особливо у випадку їх первинних значень, близьких до негативних (N = від 0 до 10), тобто йдеться про рецептор-позитивні пухлини, що наближаються до потрійно негативного раку молочної залози.

Визначається тенденція до зміни статусу пухлини при наявності в анамнезі таргетного лікування (значення критерію кореляції 0,111). У 2 випадках спостерігалась різка втрата експресії

епідермального фактору росту (до негативних значень), а в одному випадку ми виявили втрату стероїдних рецепторів.

Дистанційна гамма-терапія мала вірогідний вплив на зміну імуногістохімічного статусу пухлини (значення коефіцієнту 0,050). У 4 випадках рееструвалася зміна експресії Her-2/neu, а в 2 – рецепторів естрогену та прогестерону.

Також вірогідний вплив мала ступінь диференціювання пухлини (значення критерію Мана-Уїтні 0,050).

Виявлений вплив на динаміку імунофенотипу раку молочної залози репродуктивного статусу жінку на момент виявлення хвороби (критерій Мана-Уїтні 0,55). Просліджуються тенденції до більш частішої конверсії фенотипу пухлини, якщо жінка знаходиться в репродуктивному віці.

Статистично вірогідним є вплив на динаміку фенотипу пухлини місця отримання біопсії (значення критерію 0,089), тобто пул злоякісних клітин, які були досліджені. При дослідженні регіонарних або віддалених метастазів імунофенотип пухлини відрізняється частіше.

Ряд факторів не показали наявності статистичної тенденції між динамікою імуногістохімічних показників та особливостями пухлини або пацієнтки. Так, інтервал між проведенням імуногістохімічних досліджень не мав вірогідного впливу (значення критерію Мана-Уїтні 0,174). Найбільша кількість змін фенотипу пухлини припадала на строк до 4 місяців після первинного визначення фенотипу та на строки від 12 місяців і більше. Не впливав на можливість зміни фенотипу пухлини і тип захворювання – первинний чи рецидивний рак молочної залози (критерій Мана-Уїтні 0,158).

Значення критерію кореляції для віку пацієнтів складо 0,707. Тобто вірогідність впливу його не підтверджена.

Не мало статистично вірогідного впливу й інші характеристики: наявність лікування в анамнезі, наявність хіміотерапії, гормонотерапії та хірургічного лікування на етапах терапії; гістологічний тип пухлини, ступінь терапевтичного пошкодження пухлини, критерії T, N та M; стадія захворювання в цілому. Для хіміотерапевтичного та хірургічного втручання слід зазначити, що такі показники статистичної вірогідності можуть бути обумовлені проведенням цих типів лікування майже усім пацієнтам. Тобто, вони потребують подальшого дослідження з формування групи порівняння, в якій ці методи терапії не використовуватимуть.

Надалі ми проаналізували вплив цих факторів у пацієнтів з первинним типом раку молочної залози. Були виявлені деякі відмінності впливу конкретних факторів на динаміку біологічних маркерів раку.

Для даної групи пацієнтів статистично вірогідними вважалися такі фактори, як первинний імуногістохімічний фенотип пухлини (значення критерію кореляції 0,071) та первинні значення естрогенових (критерій Мана-Уїтні 0,030) і прогестеронових рецепторів (коефіцієнт Мана-Уїтні 0,027). Залежність була аналогічною до загальної виборки, так само спостерігалася тенденція до

втрати стероїдних рецепторів, чий значення первинно були близькі до 0.

Таргетна терапія у даної групи пацієнтів була відсутня, тому говорити про її вплив не є можливим.

Не було виявлено впливу дистанційної гамма-терапії на ймовірність зміни значень рецепторів пухлини (значення коефіцієнту кореляції складо 0,180).

Значення коефіцієнту для репродуктивного статусу складо 0,064, тенденція до змін була аналогічною загальній групі – частіше зміни рецепторів зазнавали жінки, що знаходилися в репродуктивному віці.

Ступінь диференціювання пухлини напроти не сприяла зміні фенотипу пухлинної клітини і для цього фактору критерій Мана-Уїтні був 0,534.

Місце отримання біоптату також статистично не впливало на тенденцію до конверсії фенотипу (коефіцієнт 0,194), проте це пояснюється характеристикою цієї групи. Біопсії підлягала одна і та сама локалізація пухлини – первинна (доопераційна діагностика та діагностика післяопераційного матеріалу).

Вік, наявність лікування в анамнезі, наявність хімію- та гормонотерапії на етапах лікування, хірургічного лікування, критерії T, N, M, стадія хвороби також не мали статистично доведеного впливу на зміни біологічної агресивності досліджуваних пухлин.

Вірогідною є тенденція до зміни імунофенотипу пухлини в залежності від гістологічного типу раку (критерій Мана-Уїтні 0,082). Просліджується динаміка до більш частішої зміни імунофенотипу раку у випадку наявності протокової карциноми.

Далі була проаналізована група пацієнтів з рецидивним раком молочної залози. Дослідженню підлягали аналогічні характеристики пухлин, організму пацієнтів та особливостей терапевтичного процесу.

Перші три фактори та їх вплив є аналогічними до інших сформованих груп – первинний тип пухлини (значення коефіцієнту Мана-Уїтні 0,020), статус прогестеронових рецепторів (0,058) та естрогенових рецепторів (0,078). Так як і у загальній групі, спостерігається тенденція до зміни низьких значень стероїдних рецепторів, тобто втрата гормонального статусу і набуття статусу потрібно негативного раку або Her2/neu позитивної пухлини.

Не було виявлено вірогідного впливу таргетної терапії на імунофенотип раку (значення критерію 0,145), проте він є близьким до критерію загальної групи и можна припустити, що відсутність змін у пацієнтів з рецидивним типом раком молочної залози обумовлена невеликою кількістю спостережень в підслідній групі.

Дистанційна гамма-терапія не впливала на ймовірність зміни біологічної агресивності пухлини. Аналогічно не викликали змін репродуктивний статус пацієток, вік, наявність лікування в анамнезі, наявність хіміотерапії на етапах лікування, хірургічне лікування в анамнезі, ступінь терапевтичного ушкодження пухлини, критерії T, N, M та стадія захворювання.

Місце отримання біопсії (значення критерію Мана-Уїтні 0,493) не виявило вірогідного впливу на динаміку імунотипу. Проте, слід зазначити, що це обумовлене скоріше особливостями групування пацієнтів. У цій підгрупі майже у всіх хворих матеріал для повторного дослідження пухлини отримувалася з рецидивного вогнища.

Доведено вплив ступеню диференціювання пухлини (значення коефіцієнту 0,041) на зміну імунотипу раку у пацієнтів з рецидивним процесом. Як і в загальній вибірці, тенденція до змін мали пацієнти з більш низьким ступенем диференціювання карциноми. Так, у 9 пацієнтів з 14, що мали конверсію фенотипу, була виявлена карцинома з низьким ступенем диференціювання.

Зі значною вірогідністю можна говорити про вплив гормонотерапії на зміну біологічних маркерів пухлини в процесі лікування (значення коефіцієнту Мана-Уїтні 0,016). У 11 пацієнток в групі, що отримували гормонотерапію, спостерігалася конверсія фенотипу. 3 пацієнтки втратили тільки експресію рецепторів епідермального фактору росту, у 2 випадках втратили і Her2/neu і стероїдні рецептори. У двох пацієнток зникла експресія виключно естрогенових та прогестеронових рецепторів, у одній жінки зникла експресія епідермального фактору росту та з'явилася експресія стероїдних рецепторів, у одному випадку — протилежна картина. У 2 пацієнток виросла експресія виключно стероїдних рецепторів.

Впливу гістологічного типу карциноми в цій групі пацієнтів виявлено не було (значення критерію 0,132).

При аналізі даних в цілому виникають деякі сумніви в достовірності впливу променевої терапії на зміну імунотипу. Так, в загальній групі вплив променевого лікування високо вірогідний, а при аналізі впливу опромінення на зміну фенотипу в кожній групі окремо такої закономірності не просліджується взагалі. Очевидно похибка в обчисленні обумовлена невеликою кількістю хворих, що отримували променево лікування в кожній групі. Ця проблема потребує додаткового вивчення.

Таким чином, зміна імунотипу раку молочної залози в нашому дослідженні спостерігалася в 44,78%, що дещо перевищує світові дані. Найбільшу тенденцію до змін має люмінальний В підтип карциноми. Найчастіше спостерігається тенденція до втрати невисоких значень експресії стероїдних рецепторів та набуття пухлиною статусу потрійно негативного або Her2/neu раку. На тенденцію до зміни імунотипу пухлини в процесі її розвитку та лікування впливають первинний імунотип, наявність дистанційної гамма-терапії, гормонального і таргетного лікування в анамнезі, репродуктивний статус пацієнтки на момент виявлення хвороби, низький ступінь диференціювання пухлини, отримання матеріалу для повторного імуногістохімічного дослідження з віддаленого вогнища.

М.Н. Elhazhzh, I.N. Bondarenko, V.F. Zavizion, A.V. Kunik, O.I. Aseyev, M.V. Artyemenko

Influence of systemic treatment on immunofequent breast cancer

In the process of systemic treatment there often occurs a change of tumor phenotype. Changing of the immune phenotype of breast cancer in the course of treatment is crucial for choice of tactics for further conduct of the patient and may influence choice of systemic therapy. Retrospectively there have been analyzed medical histories of 67 patients. In all the cases there have been carried out primary and recurrent tumors immunohistochemical researches. In parallel, there has been studied influence of such factors as experienced stages of treatment, medical history of patients, on probability of change in the immune phenotype of breast cancer. Change of carcinoma immune phenotype has been observed in 30 patients. Luminal subtype B has the most significant tendency to change the phenotype. Presence of radiation and targeted therapies in the medical history are also of great importance as well as degree of tumor differentiation and place of biopsy (University clinic. — 2013. — Vol.9, №1. — P. 54-58).

Keywords: breast cancer, treatment, immunohistochemical tumor phenotype.

М.Х. Эльхажж, И.Н. Бондаренко, В.Ф. Завизион, А.В. Куник, О.И. Асеев, М.В. Артеменко

Влияние системного лечения на иммуноферментный рак молочной железы

Во время системного лечения нередко наблюдается смена фенотипа опухоли. Изменение иммунотипа рака молочной железы в процессе лечения является решающим в выборе тактики дальнейшего ведения пациента и может влиять на выбор системной терапии. Ретроспективно проанализированы истории болезни 67 пациентов. Во всех случаях были проведены первичные и повторные иммуногистохимические исследования опухолей. Параллельно исследовалось влияние ряда факторов, таких как полученные этапы лечения, анамнестически данные пациентов, на вероятность изменения иммунотипа рака молочной железы. Изменение иммунотипа карциномы наблюдалось у 30 пациентов. Самую выраженную тенденцию к смене фенотипа имеет люминальный В подтип опухоли. Также вероятное влияние оказывают наличие лучевой и таргетной терапии в анамнезе, степень дифференцировки опухоли, место получения биопсии (Университетская клиника. — 2013. — Т.9, №1. — С. 54-58).

Ключевые слова: рак молочной железы, лечение, иммуногистохимический фенотип опухоли.

ЛІТЕРАТУРА

1. Семглазов В.В. Рак молочной железы / В.В. Семглазов, Э.Э. Топузов; под ред. проф. В.Ф. Семглазова. - М., 2009. - 172 с.
2. *Abeloff M.D. Clinical Oncology*. - 4th ed/ M.D. Abeloff, J.O. Armitage-Abeloff. - Philadelphia, 2008. - 95 p.
3. Breast Cancer Symposium; «Changes in HER2 status after neoadjuvant treatment of breast cancer» 2011 ASCO Annual Meeting [електронний ресурс] — Режим доступу. URL <http://meetinglibrary.asco.org/content/83153-102>
4. *Holdaway I.M. Variation in receptor status between primary and metastatic breast cancer/ I.M. Holdaway // Cancer*. - 1983. - Vol. 52, №3. - P.479-485.
5. *Hortobagyi G.N. The global breast cancer burden: variations in epidemiology and survival / G.N. Hortobagyi // Clin Breast Cancer*. - 2005. - Vol.6(5) - P.391-401.
6. [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://users.i.kiev.ua/~ucr>.

Надійшла до редакції: 28.07.2013